ORSAY
n° d'ordre : 2 4 7

UNIVERSITE DE PARIS-SUD

CENTRE D'ORSAY

THESE

présentée

Pour obtenir

Le TITRE de DOCTEUR d'UNIVERSITE

spécialité SCIENCES NATURELLES

PAR

Françoise SAVIOZ-SIMONNET

.....

SUJET ADAPTATION A LA PHARMACOCINETIQUE ET A LA RADIOTOXICOLOGIE DE SYSTEMES DE MESURES DE RADIOACTIVITE PAR SCINTILLATION EN MILIEU LIQUIDE

.....

soutenue le 30 juin 1981 devant la commission d'examen

M. F.CHEVALLIER	Président
M. Y.COHEN	Rapporteur
M. A.HERPIN	

ORSAY
n° d'ordre : 2 4 7

UNIVERSITE DE PARIS-SUD

CENTRE D'ORSAY

THESE

présentée

Pour obtenir

Le TITRE de DOCTEUR d'UNIVERSITE

spécialité SCIENCES NATURELLES

PAR

Françoise SAVIOZ-SIMONNET

•••••

SUJET ADAPTATION A LA PHARMACOCINETIQUE ET A LA RADIOTOXICOLOGIE DE SYSTEMES DE MESURES DE RADIOACTIVITE PAR SCINTILLATION EN MILIEU LIQUIDE

•••••

soutenue le 30 juin 1981 devant la commission d'examen

M. F.CHEVALLIER	Président
M. Y.COHEN	Rapporteur
M. A.HERPIN	

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Ce travail a été réalisé à l'Institut National des Sciences et Techniques Nucléaires dans le laboratoire de radiobiologie.

Je veux exprimer ma reconnaissance à Monsieur le Professeur F. CHEVALLIER qui m'a fait découvrir la recherche durant les années passées dans son service, au début de ma carrière, et qui a accepté de présider cette thèse.

Je tiens à remercier Monsieur le Professeur Y. COHEN, Président de l'Université Paris-Sud, dont les suggestions sont à l'origine d'une partie de ce travail et qui a bien voulu assumer la tâche de rapporteur de cette thèse.

Je remercie Monsieur le Professeur A. HERPIN, Président honoraire de l'Université Paris-VI, Directeur de l'Institut National des Sciences et Techniques Nucléaires, qui, après m'avoir encouragée à effectuer cette thèse, a accepté de la juger.

Monsieur Gérard SIMONNET, mon époux, sous la direction de qui ce travail a été réalisé, m'a fait profiter de son expérience dans le domaine des mesures de radioactivité à l'aide des compteurs à scintillation liquide et a contribué par ses conseils à la réalisation de ces

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41547326_0020

études. Je suis heureuse de lui témoigner ici ma profonde gratitude pour le soutien qu'il m'a constamment apporté.

Je dois aussi une reconnaissance particulière aux chercheurs dont la collaboration a permis l'aboutissement de ce travail : Madame C. BOCQUET, Messieurs M. AZRIA et BOURDINAUD.

Enfin, mes remerciements vont à mes collègues et amis du laboratoire qui m'ont apporté leur aide au cours de la réalisation de ce mémoire. Qu'ils trouvent ici un témoignage de mon amitié.

SOMMAIRE

AVANT-PROPOS : liste des travaux

INTRODUCTION

I - MESURE DE LA RADIOACTIVITE SANGUINE CHEZ L'ANIMAL 4

1. Dispositif expérimental 5

2. Méthode 5

A - Animaux utilisés 7

B - Réglage des canaux de mesure du compteur et conditions de comptage 9

3. Résultats 11

A - Détermination des efficacités de comptage et du mouvement propre des cellules avant et après utilisation ... 11

B - Utilisation du dispositif pour la mesure de la durée de vie sanguine de différents produits pharmacologiques .. 17

a) carbamate d'éthyle ^{14}C 17

b) maléate de pyrazinobenzoxazépine-^{14}C 20

- voie intraveineuse 20

- voie orale 20

4. Discussion 24

II - LES MESURES DE RADIOACTIVITE DU $^{14}CO_2$ EN RADIOTOXICOLOGIE ... 28

1. Matériel et produits 29

2. Mode opératoire et résultats 30

3. Conclusion 38

III - LES MESURES DE RADIOACTIVITE DU $^{14}CO_2$ CONTENU DANS L'AIR EXPIRE PAR UN ANIMAL 39

1. Description du dispositif expérimental 40

2. Résultats 42

A - Détermination de l'efficacité de détection du $^{14}CO_2$ dans la fiole de comptage 42
B - Temps de réponse du détecteur 44
C - Utilisation du dispositif pour la mesure de paramètres biologiques 44

a) Mesure de la vitesse de renouvellement du $^{14}CO_2$. 44

- Mode opératoire 46

b) Mise en évidence et mesure du $^{14}CO_2$ éliminé à la suite de l'administration d'un médicament marqué par du carbone-14 49

3. Discussion 51

CONCLUSIONS 54

BIBLIOGRAPHIE 57

AVANT-PROPOS

Ce mémoire regroupe des travaux réalisés dans le laboratoire de Radiobiologie de l'Institut National des Sciences et Techniques Nucléaires, en collaboration avec : le Département de Physique des Particules élémentaires, le Service Médical du Travail du CEN-Saclay et le Département Pharmaceutique des établissements SANDOZ.

Le point de départ d'une partie de ces études a été la mise au point de travaux pratiques organisés dans le cadre des enseignements sur l'utilisation des radioisotopes en recherche biologique.

Le contenu de ce mémoire a fait l'objet des publications suivantes :

F. SIMONNET et G. SIMONNET
Int. J. Appl. Rad. Isotopes, 1978, 29, 589
Mesure en continu par scintillation en milieu liquide du CO_2-^{14}C expiré par un animal.

F. SIMONNET et G. SIMONNET
Liquid Scintillation Counting. Recent Applications and Development - vol. II - Sample Preparations and Applications edited by Chin-Tzu-Peng, Donald L. Horrocks, Edward L. Alpen - Academic Press - Continuous Measurement of $^{14}CO_2$ by Liquid Scintillation Counting - p. 133-140.

F. SIMONNET, C. BOCQUET
Rapport CEA-R-5060 - 1980
Détection de $^{14}CO_2$ en radiotoxicologie.

F. SIMONNET, M. AZRIA, M. BOURDINAUD, G. SIMONNET
soumis à J. Pharmacokinetics and Biopharmaceutics
Flow measurement of animal blood radioactivity.

INTRODUCTION

De nombreuses études biochimiques ou physiologiques et la majorité des études pharmacocinétiques et toxicocinétiques font appel à l'utilisation de molécules marquées par des radionucléides (1, 2).

Dans le cas où une telle étude a pour but de suivre en fonction du temps, sur un animal, l'évolution de la radioactivité au niveau du sang, de la bile, de l'urine ou de l'air expiré (3), les mesures itératives ont été souvent remplacées par des mesures en continu. En 1949, F. MOREL et F. SERREL ont mis au point un système de mesure en continu du ^{24}Na contenu dans le sang (4) et dans l'urine (5). Le dispositif consistait à faire circuler le liquide dans un tube de matière plastique enroulé autour d'un compteur Geiger-Müller. Dans le but d'étudier le comportement de divers traceurs radioactifs destinés à l'exploration fonctionnelle du système réticulo-endothélial, J.J. CHIVOT (6) a effectué, chez le rat, des mesures en continu, de sérumalbumine ^{131}I et d'or colloïdal ^{198}Au dans le sang. Le détecteur utilisé est un compteur gamma équipé d'un cristal puits d'iodure de sodium. Une partie du cathéter dans lequel circule le sang traverse le puits du détecteur. Au moyen de la même technique, C. ARDIET et J.O. PEYRIN (7) ont mesuré la disparition, dans le sang, du "contrix-28"* marqué par de l'iode 125. J. ROBA et coll. (8) ont décrit un système détecteur permettant de mesurer en continu la radioactivité sanguine d'un animal auquel il a été injecté un composé marqué par du phosphore-32. Le dispositif de comptage est constitué par un compteur à scintillation liquide, dans lequel une fiole contenant du liquide scintillant, maintenue entre les deux photomultiplicateurs, est traversée par le cathéter dans lequel circule le sang.

Ces divers systèmes de détection en continu sont essentiellement adaptés à la mesure de la radioactivité des radionucléides qui émettent des rayonnements γ ou X ou bien des particules β^- d'énergie relativement élevée, supérieure à 1 MeV. En fait, dans les études biologiques ce ne sont pas ces types de radionucléides qui sont le plus fréquemment utilisés, mais plutôt

---

* Contrix-28 : solution d'iotalamate de méthylglucamine à 28 % d'iode, utilisée comme produit de contraste pour exploration radiologique.

des radionucléides émetteurs β^- purs de faible énergie (< 300 keV). Parmi ceux-ci on peut citer : le ^{3}H, le ^{14}C, le ^{35}S, le ^{45}Ca, etc.. Il se pose pour leur détection une difficulté qui est liée au fait que les particules β^- émises ont un parcours très faible dans la matière : quelques dizaines de micromètres seulement. Ceci rend les détecteurs précédemment décrits inutilisables. En effet, dans tous les cas la source radioactive est séparée du détecteur par l'épaisseur du cathéter dans lequel circule le sang ou le fluide dont la radioactivité est à mesurer.

Pour les radionucléides émetteurs β^- de faible énergie, il faut utiliser des systèmes dans lesquels la source radioactive est en contact direct avec le détecteur. E. SCHRAM et R. LOMBAERT les premiers ont décrit un système répondant à cette condition (9). Le détecteur est constitué d'une cellule en matière plastique scintillante à travers laquelle circule le liquide radioactif, l'ensemble étant placé entre deux photomultiplicateurs. J.Y. VIDEAU (10) pour mesurer la radioactivité sanguine d'un rat, et M. DOURY-BERTHOD (11) pour mesurer la radioactivité d'effluents chromatographiques ont utilisé un cathéter rendu scintillant, placé entre les deux photomultiplicateurs d'un compteur à scintillation liquide.

La technique de mesure en continu des émetteurs β^- de faible énergie présente toutefois l'inconvénient de conduire à une efficacité de comptage toujours très inférieure à celle obtenue par comptage d'échantillons successifs dispersés dans du liquide scintillant. Cependant, par rapport à des mesures itératives, la détection en continu comporte des avantages incontestables qui sont :

a) une meilleure discrimination des variations de la radioactivité dans le temps,

b) la non destruction de l'échantillon,

c) l'automatisme de fonctionnement,

d) un prix de revient inférieur de la mesure.

L'importance des avantages de la détection en continu nous ont conduits à mettre au point deux systèmes de détecteurs pour le ^{14}C. L'un est utilisé pour mesurer en continu la radioactivité sanguine d'animaux de laboratoire relativement gros comme le miniporc et l'autre pour mesurer la radioactivité du $^{14}CO_2$ expiré par un animal ; ce dernier détecteur pouvant également être utilisé pour la détection de radioactivité dans l'air.

Notre expérience dans le domaine de la détection du $^{14}CO_2$ nous a également conduits à mettre au point une technique de mesure appliquée à la radiotoxicologie.

Le présent travail a consisté en une mise au point des procédés de comptage et à leur utilisation dans le cadre d'études pharmacologiques et toxicologiques.

CHAPITRE I

MESURE DE LA RADIOACTIVITE SANGUINE CHEZ L'ANIMAL

Pour réaliser la détection en continu de la radioactivité sanguine, chez l'animal, on établit sur celui-ci une circulation extracorporelle. Une partie du cathéter dans lequel circule le sang est placé dans le détecteur de rayonnements. Si la mesure s'effectue sur un petit animal tel que le rat la technique mise au point par VIDEAU (10) est bien adaptée. Le détecteur est alors constitué d'un cathéter scintillant dont le diamètre externe est de 1 millimètre ; un tel cathéter est tout-à-fait raccordable à une artère de rat et permet un débit sanguin convenable. Pour des animaux plus gros, chien, singe, porc, etc.. il serait nécessaire d'avoir recours à un cathéter de plus grand diamètre, mais ceci entraînerait au niveau de la détection une trop grande auto-adsorption des particules β^- du sang et l'efficacité de comptage serait extrêmement faible.

Pour ces animaux, B.F.J. PAGE et M.W. BAINES (12) ont décrit un système détecteur constitué par une cellule en polystyrène scintillant (KL 211). Dans le but d'étudier la durée de vie sanguine de différents médicaments marqués par du ^{14}C, chez le miniporc, nous avons utilisés des cellules scintillantes du type de celles décrites par PAGE et BAINES. Mais les problèmes rencontrés au niveau des propriétés d'émission de fluorescence de ces détecteurs nous ont conduits à réaliser des cellules constituées de matières plastiques scintillantes de nature différente.

Dans le présent chapitre, nous décrirons ces différentes cellules, comparerons leurs caractéristiques et donnerons les résultats pharmacocinétiques obtenus.

1. DISPOSITIF EXPERIMENTAL

Le compteur à scintillation liquide utilisé est un appareil Intertechnique SL 20, il est associé à :

- un intégrateur Intertechnique DA 101,
- un transformateur logarithmique,

et une table traçante Ifelec.

L'ensemble permet l'enregistrement en continu de la radioactivité.

Les cellules scintillantes utilisées ont trois origines : une cellule en polystyrène KL 211 provient des laboratoires Koch-Light, des cellules en plastique NE 110 ont été fabriquées aux laboratoires Sandoz, enfin des cellules en Altustipe bleu (13) ont été usinées dans le Département de Physique des Particules Elémentaires (CEN Saclay).

Les porcs miniatures proviennent du Centre d'Elevage des laboratoires Sandoz (Rueil).

Le carbamate d'éthyle [1-^{14}C], de radioactivité spécifique 30 mCi/mM, a été synthétisé au CEA et le maléate de [N-méthyl-4-piperazinyl-1] pyrazino [2,3-b] benzoxazépine [5,6][^{14}C-1] (produit 106-600) de radioactivité spécifique 18,7 mCi/mM a été fourni par les laboratoires Sandoz (Bâle).

Les calculs de vitesse de décroissance ont été effectués avec un micro-ordinateur Tektronix, dans le service du Professeur Y. COHEN, et un mini-ordinateur Hewlett-Packard 1000.

2. METHODE

Les cellules de mesure en plastique scintillant, bien que de géométrie différente, ont toutes un volume interne de 1 ml (fig. 1). Celles en KL 211 et en Altustipe sont fabriquées à partir d'éléments collés. Celle en NE 110 est au contraire une cellule démontable de façon à être plus aisément nettoyée après usage. L'étanchéité entre les trois parties de cette

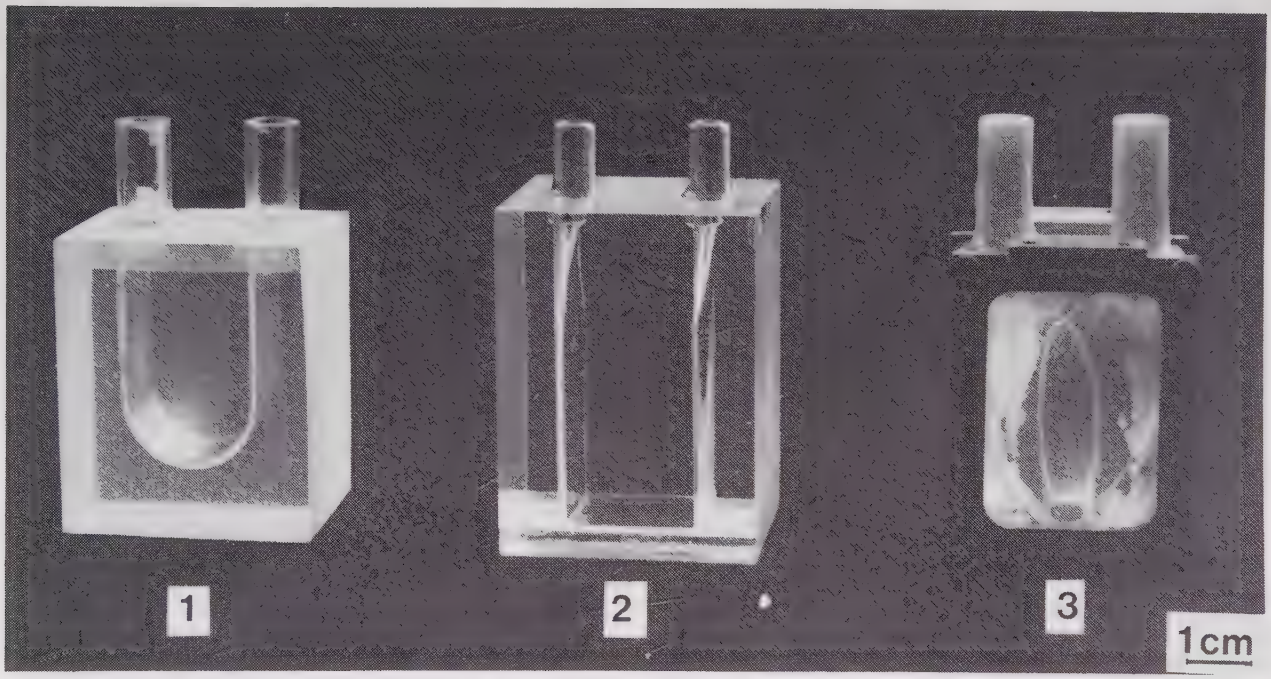


FIGURE 1 :

Cellules en matières plastiques scintillantes : 1 - cellule en polystyrène KL 211 ; 2 - cellule en Altustipe bleu ; 3 - cellule démontable en NE 110.

cellule est assurée par des joints de parafilm, l'ensemble étant maintenu au moyen d'une armature métallique. Ces cellules sont toutes de forme parallélipipédique ; leurs dimensions ont été adaptées à l'emplacement disponible dans la chambre de détection du compteur : 34 x 28 x 50 mm. Dans les cellules en plastique KL 211 et en Altustipe le sang circule dans une cavité qui donne la forme d'un rideau dont l'épaisseur est de 0,8 mm environ et la largeur de 22 mm. Cette géométrie offre l'avantage d'optimiser l'angle solide de détection. La cellule démontable en plastique NE 110 est creusée de deux cavités en forme de coeur aplati qui communiquent par leur partie inférieure. Pour toutes les cellules l'entrée et la sortie du sang se font à la partie supérieure. Dans la chambre de mesure, les cellules sont placées de telle façon que le rideau de sang se trouve dans l'axe des deux photomultiplicateurs.

Pour relier l'animal à la cellule de mesure, il n'est pas nécessaire d'utiliser des cathéters noirs dans le but d'éviter la formation d'un conduit optique provoquant l'arrivée de la lumière sur les photocathodes comme cela est le cas lors des mesures de liquides incolores ou peu colorés.

A - Animaux utilisés

Les animaux utilisés sont des porcs miniatures adultes d'environ 10 à 12 kg (14). La veille de l'expérimentation il est établi chez l'animal une circulation extra-corporelle carotide-jugulaire à l'aide d'un cathéter en silastic de 2,6 mm de diamètre intérieur (15). En attente du raccordement à la cellule, les extrémités des cathéters sont reliées entre elles. Au moment de l'expérimentation, l'animal non anesthésié, est disposé sur un support en toile plastifiée comportant quatre trous pour le passage des pattes. Le support est placé le plus près possible du compteur à une hauteur telle que le coeur de l'animal soit au même niveau que la cellule de comptage (fig. 2). La longueur du cathéter entre l'animal et la cellule est d'environ 35 cm. Cette distance étant faible, il n'est pas nécessaire d'aider la circulation sanguine à l'aide d'une pompe. Le raccordement de la cellule à l'animal se fait en deux temps. On raccorde d'abord le cathéter posé dans la carotide à celui déjà fixé à une des tubulures de la cellule. Lorsque la cellule est pleine de sang, elle est raccordée au cathéter

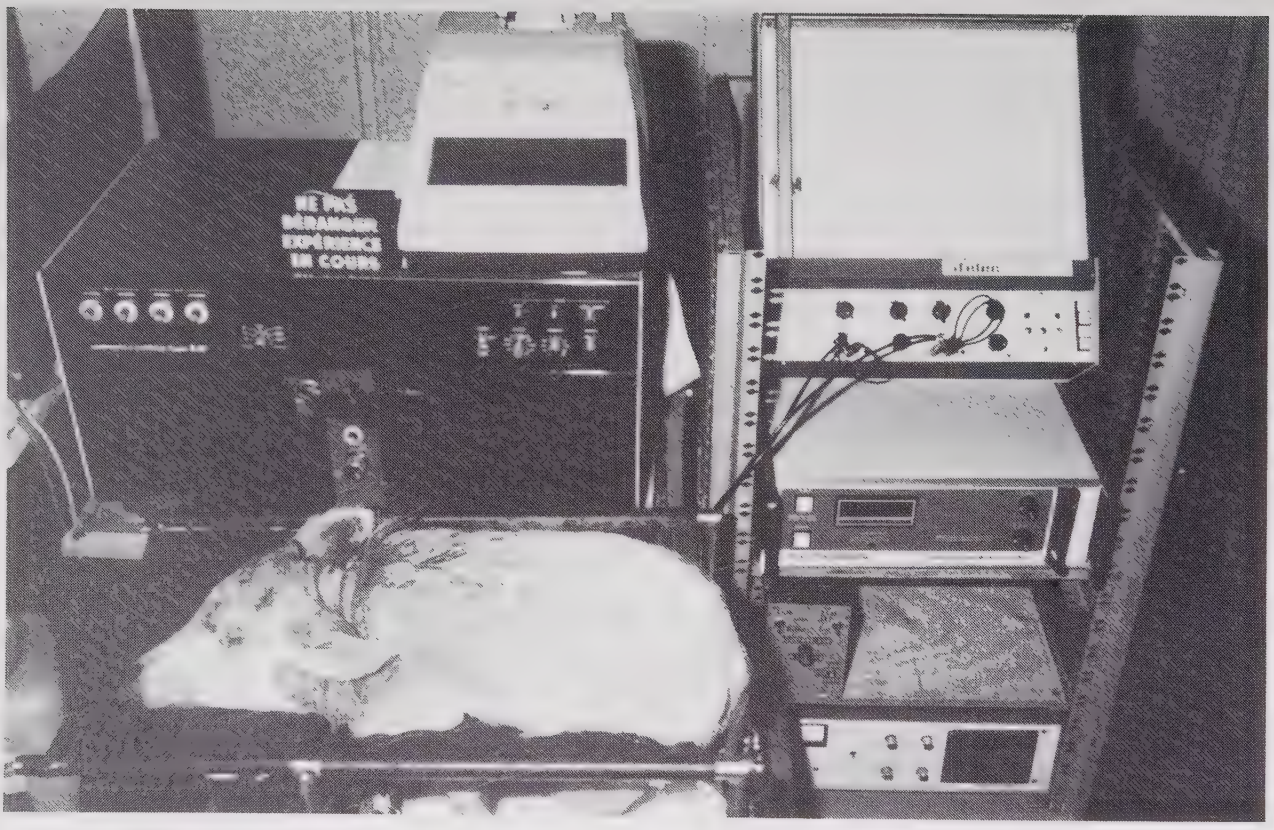


FIGURE 2 :

Installation de comptage : la circulation sanguine extracorporelle du miniporc traverse une cellule de plastique scintillant placée dans le compteur à scintillation liquide. La sortie des résultats de comptage se fait sur une imprimante et sur une table traçante après intégration du signal de sortie du compteur et transformation logarithmique.

placé dans la jugulaire. Ce dernier raccordement se fait au moyen d'une feuille anglaise. Pour éviter la formation de caillots sanguins qui pourraient obstruer la circulation, une dose de 7 500 U d'héparine est injectée par voie intraveineuse. Les injections intraveineuses sont pratiquées dans la feuille anglaise située entre le cathéter posé dans la jugulaire et l'extrémité du tube venant de la cellule.

B - Réglage des canaux de mesure du compteur et conditions de comptage

Dans le but de régler le canal de mesure du sélecteur d'amplitude du compteur SL 20, des spectres de distribution des impulsions électriques de comptage du carbone-14 ont été établis (fig. 3). Ces spectres ont été obtenus :

1) à partir d'un composé organique marqué au ^{14}C placé en solution dans du liquide scintillant ;

2) d'une molécule ^{14}C en solution aqueuse incolore placée dans une cellule en Altustipe ;

3) de sang marqué au ^{14}C et placé également dans une cellule en Altustipe.

Ces spectres sont établis en effectuant des mesures d'activité (impulsions/minute) avec une largeur de canal représentant 0,5 unité, soit 1/20 de la largeur totale disponible : 10 unités.

Les résultats montrent que du ^{14}C détecté dans une cellule plastique présente un spectre situé vers des amplitudes plus faibles que lorsqu'il s'agit de ^{14}C détecté dans du liquide scintillant. Dans le cas de la détection dans une cellule plastique, le spectre provenant du comptage du sang est plus déplacé vers les faibles amplitudes que dans le cas du comptage d'une solution aqueuse. C'est sur la base du spectre fourni par du sang placé dans une cellule plastique, que sont établis les réglages pour les mesures ultérieures : 2,5 à 5,7 unités.

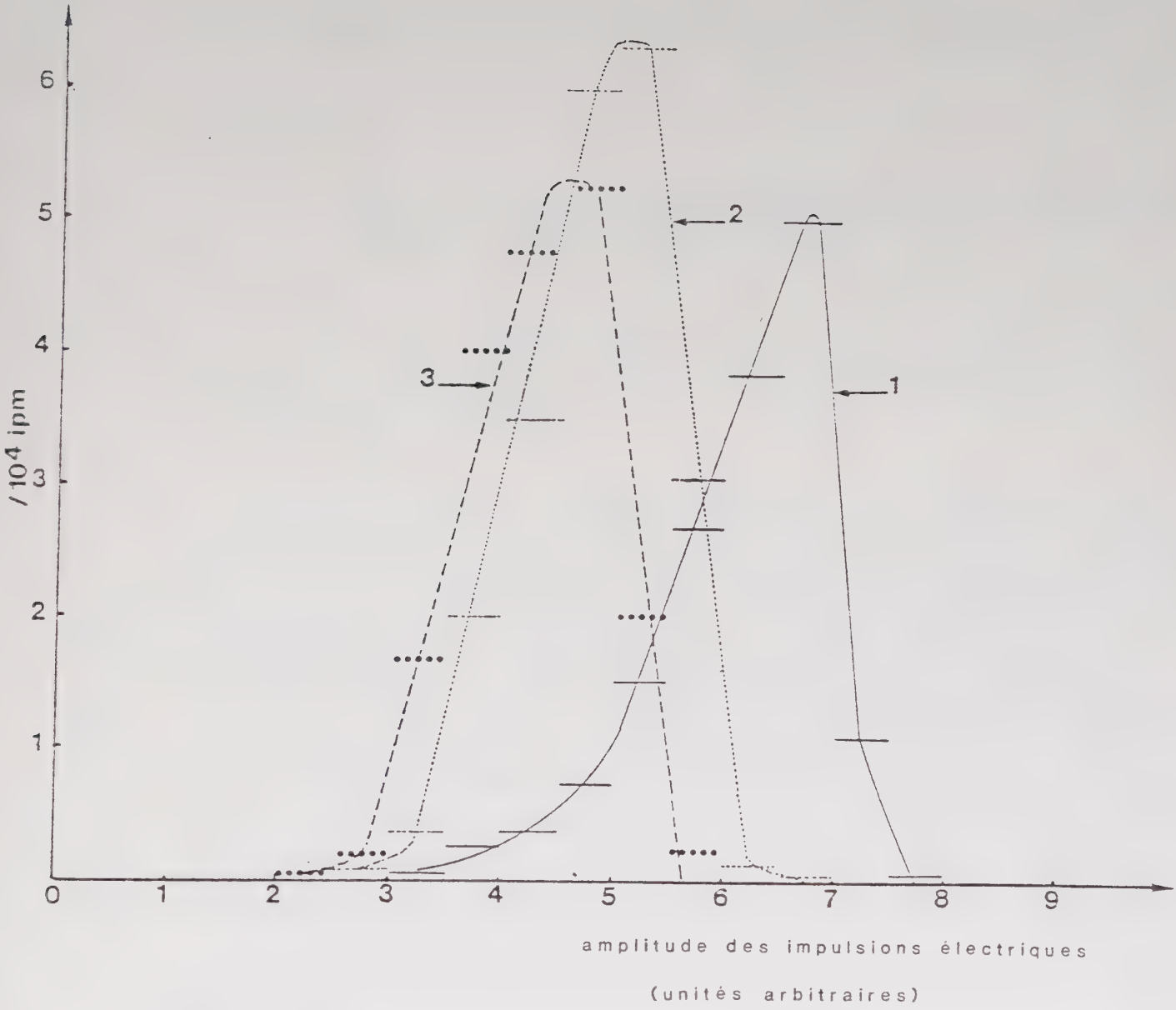


FIGURE 3 :

Spectres de distribution des impulsions électriques provenant de la détection des β^- émis par le ^{14}C. Le carbone est sous forme :

1) de ^{14}C organique en solution dans du liquide scintillant ;
2) de solution aqueuse placée dans la cellule en Altustipe ;
3) de solution dans du sang à l'intérieur de la cellule en Altustipe.

Les comptages sont exprimés en impulsions par minute pour une voie de mesure dont la largeur est le 1/20ème du canal total.

Avant chaque expérience, afin de mesurer le mouvement propre de l'installation, celle-ci est mise en fonctionnement plusieurs minutes avant l'administration à l'animal du médicament marqué. Les résultats des mesures se présentent sous forme numérique (comptages par temps réguliers) et sous forme d'enregistrement continu en fonction du temps, la radioactivité pouvant être enregistrée en coordonnées linéaires ou semi-logarithmiques.

3. RESULTATS

A - Détermination des efficacités de comptage et du mouvement propre des cellules avant et après utilisation

La mesure du mouvement propre des cellules avant utilisation est effectuée après remplissage des cellules avec du sang non radioactif. Les mouvements propres obtenus avec les trois types de cellules sont de l'ordre de 65 impulsions par minute.

Les efficacités de comptage des cellules ont été déterminées à l'aide de sang marqué par de l'acétate ^{14}C. Pour déterminer la radioactivité réelle de ce sang (désintégrations par minute), 100 µl de sang sont hydrolysés par un mélange de 0,5 ml de soluène-100 et de 0,5 ml d'isopropanol. L'hydrolysat est décoloré par 0,3 ml d'H_2O_2. Après décoloration, sont ajoutés 10 ml de liquide scintillant Dimilume. La correction de quenching est effectuée par standardisation interne à l'aide de standards calibrés LKB. Pour déterminer les efficacités de comptage des cellules, celles-ci sont remplies avec 1 ml de sang radioactif étalonné. Pour les cellules en plastique KL 211 et NE 110 la radioactivité mesurée n'est pas constante, elle augmente progressivement en fonction du temps (fig. 4). Ceci rend évidemment impossible toute détermination de l'efficacité de comptage. Pour les cellules en Altustipe, les comptages sont reproductibles dans le temps (fig. 4) et l'efficacité de comptage est de 1,8 %.

Pour les cellules en plastique KL 211 et NE 110 la variation de comptage a également été observée en les irradiant par les rayonnements γ de la

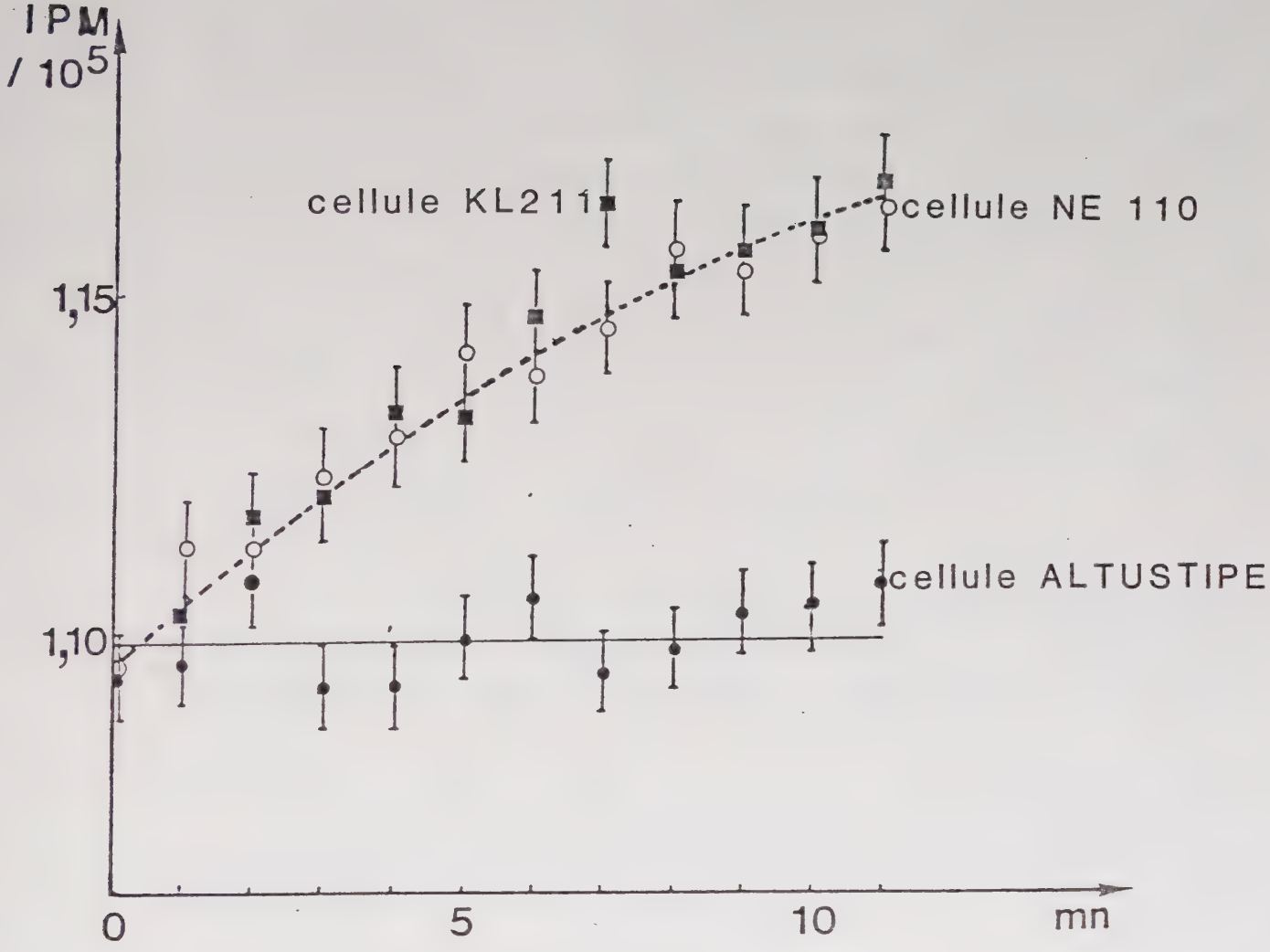


FIGURE 4 :

Comparaison du comptage effectué avec les trois types de cellules : les cellules sont remplies de sang marqué par de l'acétate ^{14}C. Des comptages de 1 minute sont effectués en répétition pendant 10 minutes avec la cellule en polystyrène KL 211 (▪), avec la cellule en plastique NE 110 (o), avec la cellule en Altustipe bleu (•). L'erreur sur les comptages est évaluée pour une probabilité de 95 %.

source externe de césium-137 du compteur SL 20. La figure 5 montre que le comptage est reproductible en fonction du temps pour le plastique Altustipe tandis qu'il s'accroît en fonction du temps pour le plastique NE 110.

Dans le but de déterminer une éventuelle contamination radioactive résiduelle des cellules après utilisation, celles-ci sont vidées du sang qu'elles contenaient et lavées par passage de 50 ml de solution de NaCl à 9 ‰. Les cellules sont ensuite remplies avec du sang non radioactif et le mouvement propre est alors mesuré en répétition par intervalle de temps de 1 minute. Les valeurs du mouvement propre après utilisation sont toujours supérieures à celles obtenues avant utilisation. Pour la cellule en plastique KL 211 après un comptage qui a augmenté progressivement de 36 000 ipm à 52 000 ipm, le mouvement propre est de 17 000 ipm, mais il décroît progressivement et après 30 minutes est redescendu à 12 000 ipm (fig. 6). Avec la cellule en plastique NE 110, on a observé le même type de phénomène, c'est-à-dire une activité qui croît et après utilisation un mouvement propre très élevé qui décroît en fonction du temps. Après plusieurs semaines le mouvement propre de ces cellules est encore de plusieurs milliers d'impulsions par minute, et continue à décroître.

Pour les cellules en Altustipe, la radioactivité résiduelle après utilisation est de l'ordre de 1 % de la radioactivité qui a été mesurée préalablement. La valeur de ce mouvement propre n'évolue pas en fonction du temps.

Ces résultats nous ont évidemment conduits à réaliser les études pharmacocinétiques qui vont suivre avec ces cellules de détection fabriquées en matière plastique Altustipe bleu.

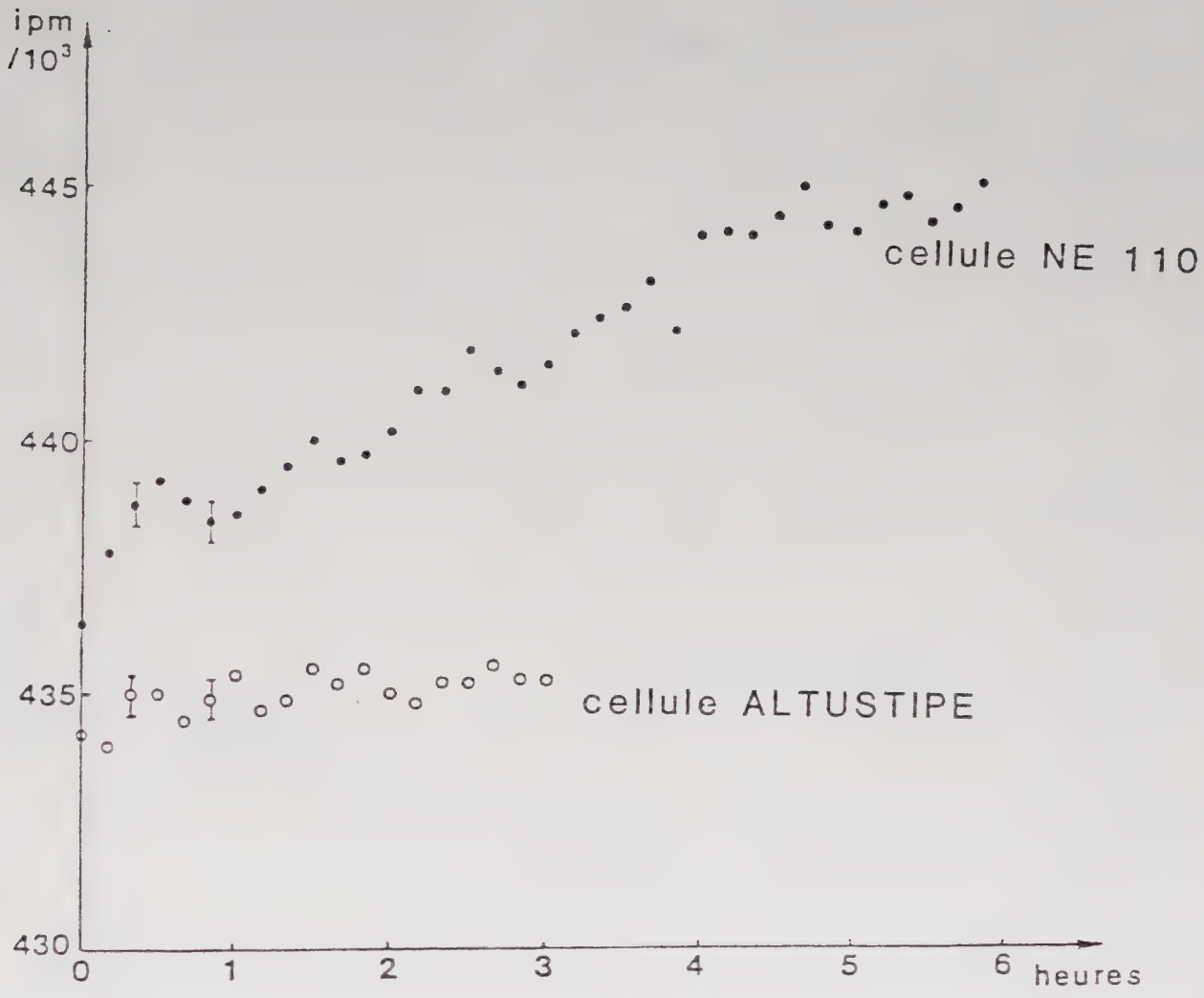


FIGURE 5 :

Comparaison du comptage en présence de la source externe : la source externe de césium 137 est positionnée sous la cellule en matière plastique scintillant placée dans le compteur. Des mesures d'activité sont effectuées en répétition toutes les minutes avec la cellule en matière plastique : NE 110 (•), Altustipe bleu (o). Chaque point représente la moyenne de 10 comptages. L'incertitude des mesures est calculée pour une probabilité de 95 %.

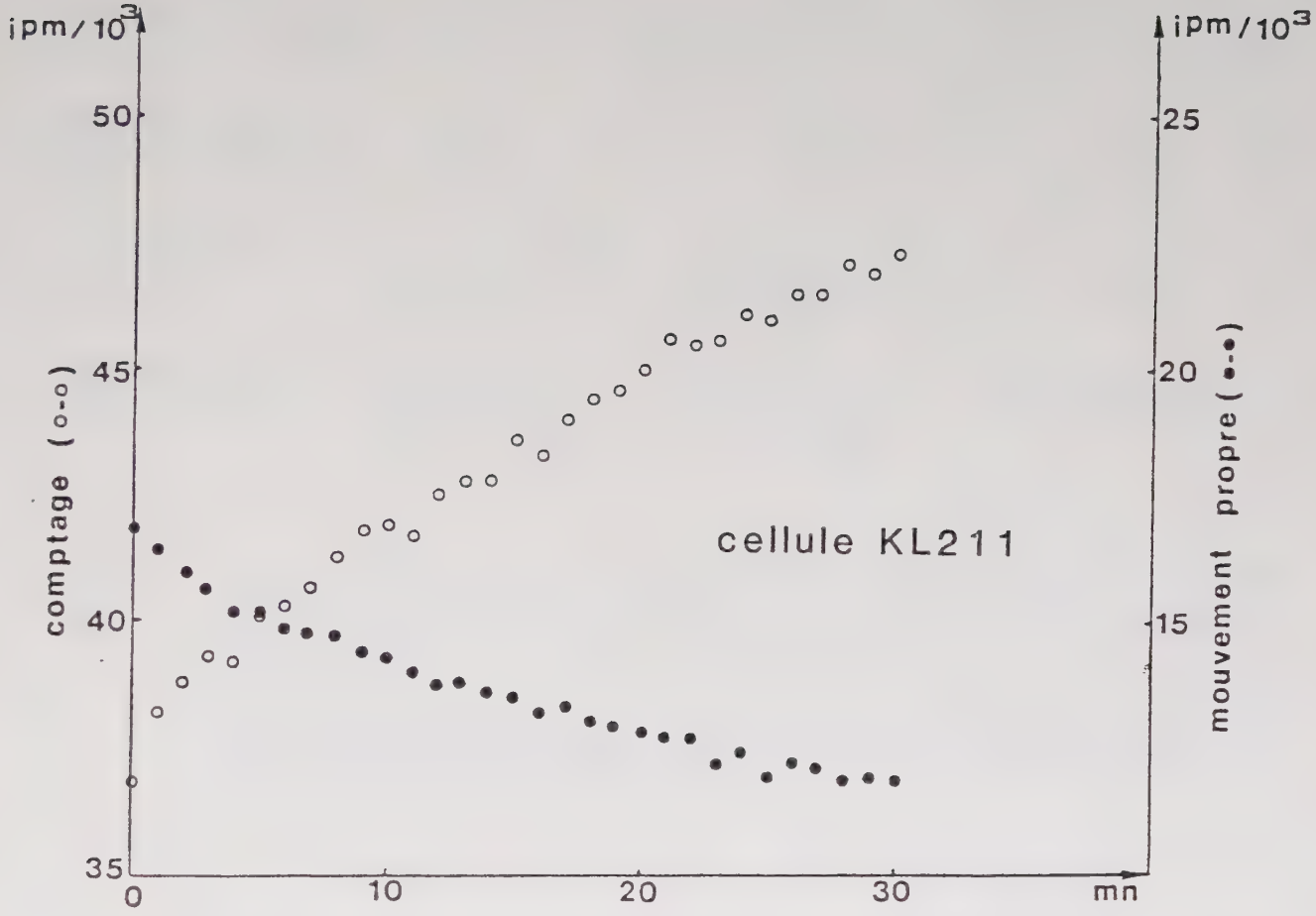


FIGURE 6 :

Evolution, en fonction du temps, de la radioactivité résiduelle après utilisation pour une cellule en polystyrène KL 211 : la cellule est remplie de sang marqué par de l'acétate-^{14}C.
Des comptages d'une minute sont effectués en répétition pendant 30 minutes (o). La cellule est ensuite vidée, lavée avec du sérum physiologique et remplie de sang non radioactif. Des comptages d'une minute sont effectués pendant 30 minutes (•).

Mesures \ Cellules	KL 211	NE 110	Altustipe bleu
Mouvement propre avant utilisation (ipm)	65 ± 5	63 ± 5	67 ± 5
Efficacité de comptage	Le comptage augmente en fonction du temps.	Le comptage augmente en fonction du temps.	1,8 %
Mouvement propre après utilisation	Très élevé Décroît en fonction du temps.	Très élevé. Décroît en fonction du temps.	≃ 1 % de la radioactivité mesurée.

TABLEAU I : Efficacité de comptage et mouvement propre avant et après utilisation.

L'efficacité de comptage est déterminée à l'aide de sang radioactif marqué au ^{14}C.

Les mouvements propres avant et après utilisation sont mesurés en présence de sang non radioactif. Les précisions des mesures sont estimées pour une probabilité de 95 % ($N \pm 2\sqrt{N}$)

B - Utilisation du dispositif pour la mesure de la durée de vie sanguine de différents produits pharmacologiques

a) Carbamate d'éthyle-^{14}C $H_2N-\overset{*}{\underset{\underset{O}{\|}}{C}}-O-CH_2-CH_3$

Du carbamate d'éthyle-^{14}C (500 µCi) est administré par voie intraveineuse à un porc mâle de 12 kg ; l'animal a reçu quelques minutes auparavant par la même voie, 10 ml d'une solution à 20 % de carbamate d'éthyle dans l'eau, soit 165 mg/kg. L'enregistrement de la radioactivité sanguine est poursuivi pendant deux heures (fig. 7). La courbe d'enregistrement de la radioactivité sanguine en fonction du temps s'élève très rapidement et passe par un maximum moins de 30 secondes après l'injection, puis décroît. La décroissance de la radioactivité est d'abord très rapide, puis beaucoup plus lente. Le traitement mathématique des données a été effectué sur mini-ordinateur Hewlett-Packard 1 000. La méthode d'analyse utilisée est le "peeling algorithm" qui est une méthode d'approche continue (16). La partie décroissante de la courbe peut être assez bien corrélée avec un modèle à trois compartiments représentés par trois courbes exponentielles (tableau II). On a admis que les phénomènes observés suivent une loi cinétique du premier ordre. Le temps au bout duquel la radioactivité a décru de moitié sera défini comme temps de demi-vie. La première exponentielle a un temps de demi-vie de 20 secondes et correspond à la dilution du produit radioactif dans la masse sanguine. La seconde avec un temps de demi-vie de 4,8 minutes traduit l'équilibration entre le compartiment sanguin et l'eau totale de l'organisme (17). La troisième composante a un temps de demi-vie de 9,5 heures et correspond à la phase d'élimination du carbamate d'éthyle. Il est à noter que le coefficient de corrélation obtenu pour cette troisième exponentielle (0,84) est nettement moins bon que celui obtenu pour les deux premières droites (0,98 et 0,975) (tableau II). Ceci tient au fait que cette partie de la courbe n'est probablement pas composée d'une seule exponentielle mais de plusieurs. De plus les valeurs de la radioactivité sont faibles par rapport au mouvement propre, lequel n'est pas parfaitement déterminé.

The data has been fitted by the sum of 3 exponentials.

The Peeling algorithm has been used:

	Parameters	Standard deviation	Half-life [MIN]
Coef(1) [IPM] :	260.5862	.0248	
Exp(1) [1/MIN] :	-.0012	.0003	573.9146
	R =	.8436 (d.f. = 5)	
Coef(2) [IPM] :	529.4916	.0768	
Exp(2) [1/MIN] :	-.1434	.0074	4.8335
	R =	.9832 (d.f. = 13)	
Coef(3) [IPM] :	10165.5410	.3208	
Exp(3) [1/MIN] :	-1.9862	.4471	.3489
	R =	.9756 (d.f. = 1)	

Study name : CARBAMATE Subject name : IV

time [MIN]	y(obs) [IPM]	y'(calc) [IPM]	residual (y-y')
.33	5600.000	6043.565	-443.565
.66	4000.000	3482.491	517.509
1.00	2000.000	2113.917	-113.917
1.33	1000.000	1421.971	-421.971
1.66	740.000	1053.442	-313.442
2.00	660.000	848.847	-188.847
2.33	660.000	738.352	-78.352
2.66	620.000	672.949	-52.949
3.00	580.000	630.304	-50.304
3.33	600.000	601.658	-1.658
4.00	520.000	561.330	-41.330
5.00	450.000	518.051	-68.051
6.00	450.000	482.779	-32.779
9.00	380.000	403.469	-23.469
12.00	335.000	351.605	-16.605
16.00	315.000	309.006	5.994
20.00	285.000	284.466	.534
25.00	270.000	267.533	2.467
30.00	245.000	258.491	-13.491
50.00	250.000	245.727	4.273
60.00	245.000	242.472	2.528
70.00	240.000	239.489	.511
80.00	240.000	236.597	3.403
90.00	235.000	233.753	1.247
100.00	225.000	230.946	-5.946

Sum of squared deviations : .8095E+06
Sum of weighted deviations : .8095E+06
Correlation coeff. : .991 with 19 degrees of freedom

TABLEAU II : Analyse numérique de la courbe de décroissance de la radioactivité sanguine d'un porc après administration par voie intraveineuse de carbamate d'éthyle-^{14}C. Les calculs ont été effectués sur ordinateur Hewlett-Packard 1000.

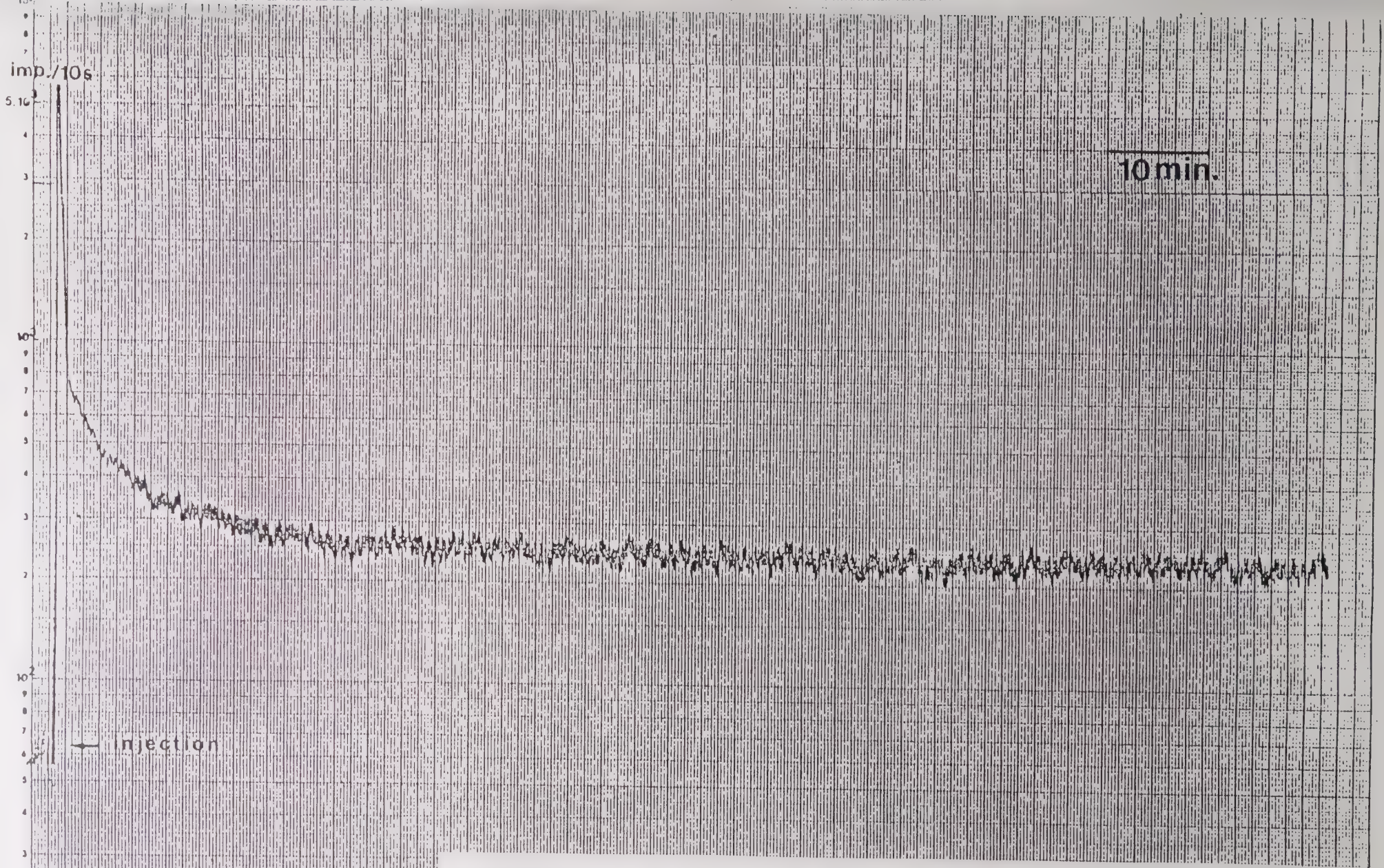
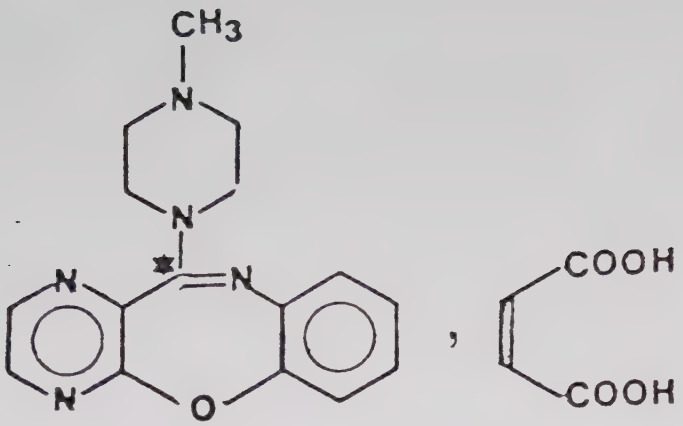


FIGURE 7 :

Evolution, en fonction du temps, de la radioactivité sanguine d'un miniporc ayant reçu 500 µCi de carbamate d'éthyle - ^{14}C (165 mg/kg) par voie intraveineuse. Le tracé de la courbe correspond à la sortie directe des résultats sur la table traçante.



maléate de [N-méthyl-4'-pipérazinyl-1] pyrazino[2,3-b] benzoxazépine [5,6] [^{14}C-1]

Cette molécule n'ayant pas encore reçu de dénomination commune internationale, ell
sera identifiée sous le numéro 106-600 utilisé par les laboratoires Sandoz.

b) Maléate de [N-méthyl-4-piperazinyl-1] pyrazino [2,3-b] benzoxazépine [5,6] [^{14}C-1] : 106-600

Le produit 106-600 est administré à deux animaux : à l'un par voie intraveineuse et à l'autre par voie orale.

Voie intraveineuse :

1 mCi de 106-600-^{14}C est mélangé à 25 mg de même composé non radioactif et injecté à un porc femelle de 10 kg. La masse injectée, 2,5 mg/kg est inférieure à la dose thérapeutique. Les résultats des comptages sont reportés en coordonnées semi-logarithmiques (fig. 8). A une montée quasiment instantanée de la radioactivité succède une décroissance qui est décomposable en deux exponentielles. Le traitement mathématique des résultats a été effectué sur un mini-ordinateur Tektronix 4052 en utilisant un programme mis au point par C. GOMENI (18). L'utilisation de ce programme implique le choix à l'avance du nombre d'exponentielles, nous n'en avons considéré que deux. Le calcul a montré que la première a une période de 48 secondes, elle correspond à la dilution du produit radioactif dans la masse sanguine. La seconde a une période de 90 minutes et traduit la phase d'élimination (tableau III).

Voie orale :

2 mCi de produit 106-600-^{14}C sont administrés par tubage à un porc mâle de 11,2 kg ; 15 minutes avant cette administration l'animal a reçu par la même voie 150 mg du composé, soit 13,5 mg/kg. Les mesures de radioactivité sanguine sont faites toutes les minutes pendant 5 heures (fig. 9).

La courbe d'évolution de la radioactivité montre qu'une minute après l'administration le composé est apparu dans la circulation sanguine, ce qui témoigne d'une absorption rapide du médicament. L'activité croît rapidement pendant 10 minutes environ, se maintient à un niveau constant pendant 50 minutes, puis décroît.

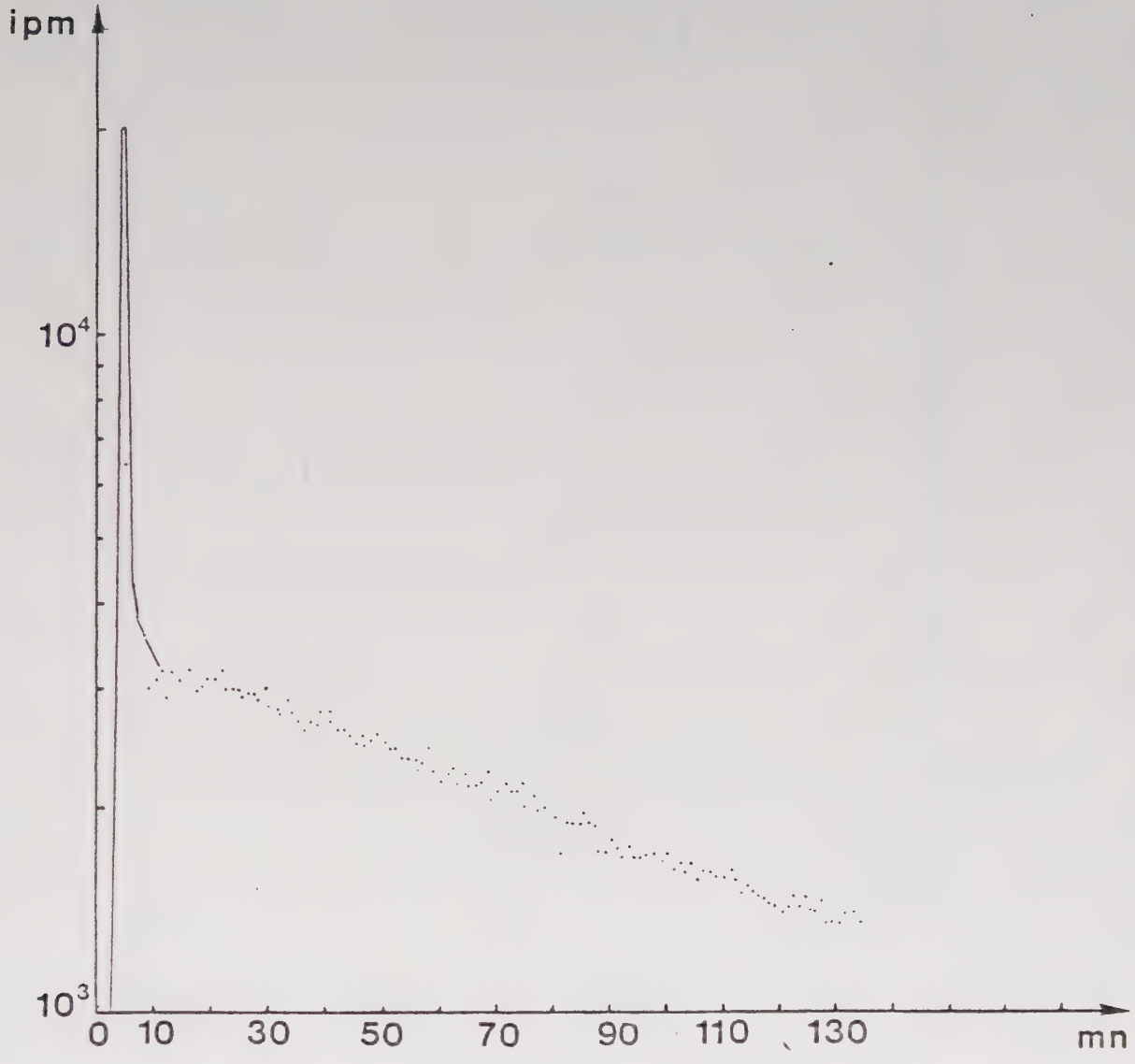


FIGURE 8 :

Evolution, en fonction du temps, de la radioactivité sanguine d'un mini-porc ayant reçu 1 mCi du produit 106-600-^{14}C (2,5 mg/kg) par voie intra-veineuse.

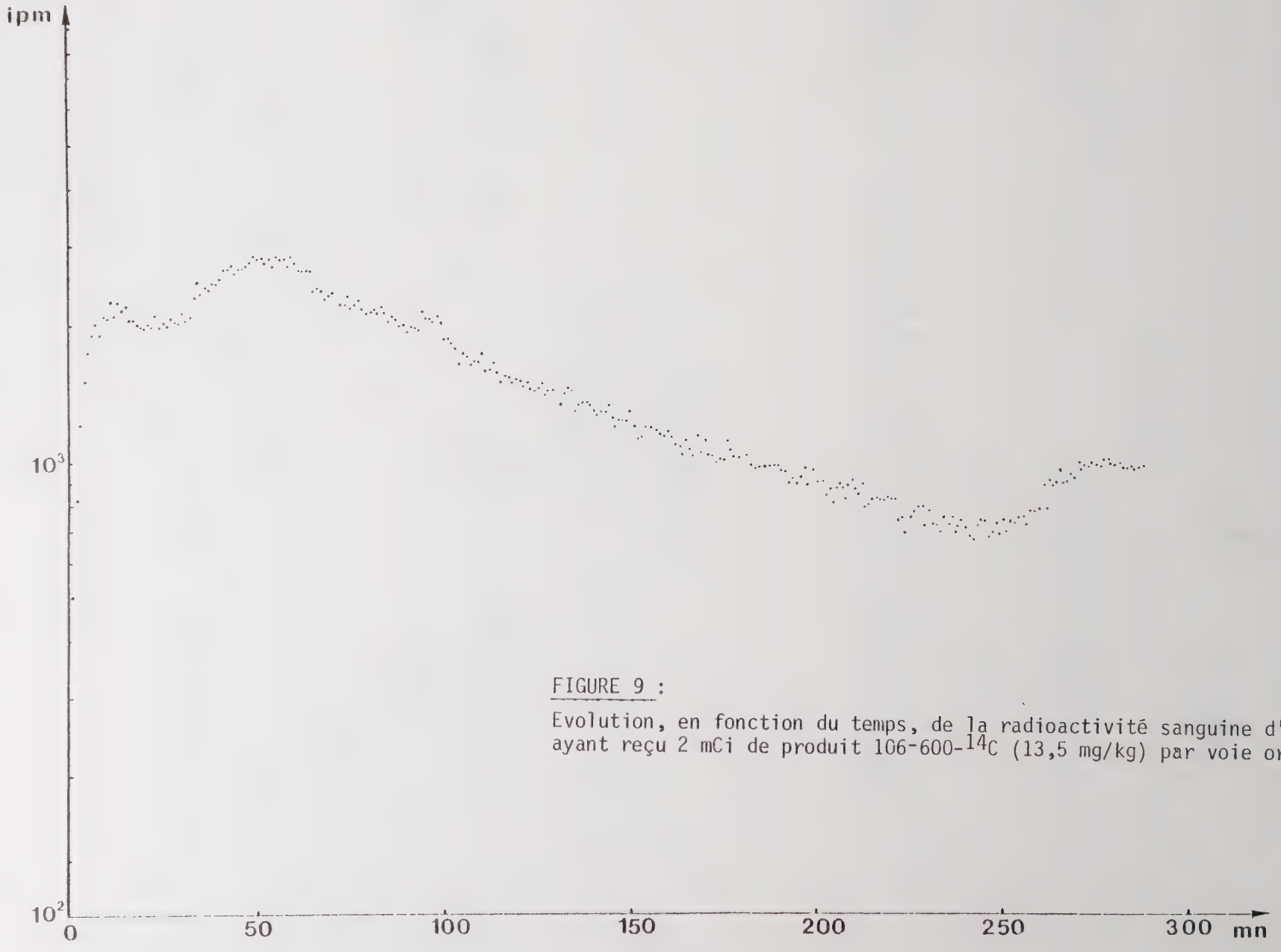


FIGURE 9 :

Evolution, en fonction du temps, de la radioactivité sanguine d'un mini-porc ayant reçu 2 mCi de produit 106-600-^{14}C (13,5 mg/kg) par voie orale.

106600
Statistics: PORC VOIE INTRA

How Many Phases? 2 How Many Points on the Terminal Phase? 19

TERMINAL PHASE

Slope = -0.00773 SE(slope) = 0.00009
ln(intercept) = 8.156 SE(ln(intercept)) = 0.086
correlation coeff. = -0.993 df = 2

Intercept B = 3303.40 exponent b = 0.00773

FIRST PHASE

Slope = -0.85281 SE(slope) = 0.06149
ln(intercept) = 9.669 SE(ln(intercept)) = 0.168
correlation coeff. = -0.995 df = 2

Intercept A = 15822.30 exponent a = 0.85281

TABLEAU III : Analyse numérique de la courbe de décroissance de la radioactivité sanguine d'un porc après administration par voie intraveineuse du composé 106-600-^{14}C. Le traitement mathématique a été effectué sur mini-ordinateur Tektronix 4052.

106-600
Statistics: MINIPORC

How Many Phases? 1 How Many Points on the Terminal Phase? 17

TERMINAL PHASE

Slope = -0.00733 SE(slope) = 0.00020
ln(intercept) = 8.269 SE(ln(intercept)) = 0.032
correlation coeff. = -0.994 df = 15

Intercept B = 3899.53 exponent b = 0.00733

The data are fitted by the sum of 1 exponentials

Terminal Phase

Y= 3899.53exp(-0.0073X)

Half-life[MINUT]: 94.50

TABLEAU IV : Analyse numérique de la courbe de décroissance de la radioactivité sanguine d'un porc après administration par voie orale du composé 106-600-^{14}C. Le traitement mathématique a été effectué sur mini-ordinateur Tektronix 4052.

Pendant l'expérimentation, l'animal qui avait reçu une dose de 106-600 de 13,5 mg/kg, donc supérieure à celle administrée par voie intraveineuse (2,5 mg/kg) a été somnolent pendant la plus grande partie du temps. Des phases d'agitation, entre la 20ème et la 50ème minute et au-delà de la 250ème minute, se sont traduites par une élévation de la radioactivité. De ce fait la courbe obtenue s'est révélée difficile à interprèter. Elle présente deux parties : une partie ascendante qui traduit la cinétique d'absorption du médicament et une partie décroissante qui correspond à la cinétique d'élimination. Seules les valeurs de la phase d'élimination ont été traitées mathématiquement sur Tektronix 4052. La partie décroissante de la courbe peut être assimilée à une mono-exponentielle dont le temps de demi-vie est de 94 minutes. La valeur de cette période est pratiquement identique à celle qui a été obtenue après injection du même produit par voie intraveineuse (90 minutes) (tableau IV).

4. DISCUSSION

Parmi les différentes matières plastiques scintillantes testées, seules les cellules en Altustipe cnt présenté une reproductibilité satisfaisante et une radioactivité résiduelle, après utilisation, acceptable.

La variabilité du comptage et le mouvement propre très élevé qui ont été observés avec les plastiques KL 211 et NE 110 ne sont pas dus au système électronique de détection des photons de fluorescence émis, ni au système de conditionnement de ce signal puisque pour le plastique Altustipe et avec un scintillateur liquide les résultats obtenus sont parfaitement constants. Ces différences de résultats pourraient être dues à la nature chimique de la matière utilisée pour fabriquer ces plastiques scintillants. Les plastiques KL 211 et NE 110 sont à base de composés styréniques, alors que le support de l'Altustipe est du polyméthyl-méthacrylate. Néanmoins, on ignore les causes de variabilité du comptage observée avec les cellules en polystyrène scintillant.

La faible efficacité de comptage obtenue lors de la détection du ^{14}C dans du sang placé dans la cellule est normale et tient au fait qu'une

proportion relativement restreinte des particules β^- émises interagissent dans le plastique scintillant et ceci après avoir perdu une partie plus ou moins importante de leur énergie cinétique dans le sang. De plus, dans le cas où il y a interaction β^- dans le scintillateur seulement 50 %, au maximum, des photons de fluorescence émis pourront être détectés, les autres étant absorbés par le sang. A ces pertes de comptage par auto-absorption des particules β^- dans le sang et par absorption des photons, s'ajoute une baisse de rendement de fluorescence du détecteur due au fait que sa température de fonctionnement est de 38 °C, ce qui diminue son rendement de 10 % par rapport à ce qu'il serait à 20 °C (19).

Pour les cellules en Altustipe la valeur de la radioactivité résiduelle, après utilisation, qui est d'environ 1 % peut être diminuée si avant utilisation la cellule est remplie d'une solution concentrée du produit à tester non radioactif, et est maintenue ainsi à 37 °C pendant plusieurs heures. En vue d'une réutilisation de la cellule, celle-ci peut être lavée mais en évitant les détergents basiques qui ont tendance à provoquer une variabilité des comptages. Ceci a été constaté pour toutes les cellules quelle que soit la matière plastique utilisée pour leur fabrication. Le lavage des cellules peut être réalisé avec de l'eau et par sonication sans risque d'altération des propriétés scintillantes. Le fait que la cellule soit démontable facilite cette opération de nettoyage (cellule en plastique NE 110). Mais cela ne résoud pas les problèmes de radioactivité rémanente, après utilisation, ce qui est de loin le plus important pour la validité de la méthode. De plus il peut se présenter avec les cellules démontables des problèmes d'étanchéité.

La première partie de ce travail avait pour but la mise au point d'une cellule en matière plastique scintillante fournissant des résultats de mesure les plus fiables possibles et ceci en vue de son utilisation pour des mesures en continu de la radioactivité sanguine d'un animal. Ce premier objectif ayant été atteint avec la matière Altustipe nous avons ensuite testé la validité de cette cellule en mesurant sur des miniporcs la vitesse de demi-vie biologique de deux médicaments marqués par du carbone-14. Les composés utilisés sont d'une part un anesthésique : le

carbamate d'éthyle-^{14}C, d'autre part un hypnotique ; le maléate de [N-méthyl-4-piperazinyl-1] pyrazino [2,3-b] benzoxazépine [5,6][^{14}C-1].

Pour le carbamate d'éthyle, le temps de demi-vie obtenu est de 9h 50, ce qui représente un temps relativement long. Cependant on sait qu'il existe une relation directe entre la présence de ce composé dans le sang et son action anesthésique (20) et qu'il s'agit d'un composé à action de longue durée.

Il est possible de rapprocher ces résultats de ceux obtenus par Y. COHEN et coll. (20) qui ont comparé, en fonction du temps, les concentrations d'uréthane dans le sang et dans le système nerveux central. Entre la 45ème et la 180ème minute après une injection intramusculaire ces auteurs n'ont pratiquement pas observé de décroissance de la radioactivité sanguine chez le rat. Si pour notre part, nous avons remarqué une décroissance de cette radioactivité sanguine, elle est extrêmement faible et les résultats obtenus ne doivent pas être considérés comme contradictoires, ils démontrent que l'élimination du carbamate d'éthyle dans le sang est un phénomène très lent.

Pour le produit 106-600-^{14}C, la demi-vie est de 90 minutes, lorsque le produit est administré par voie intraveineuse et de 94 minutes après administration orale. Ces résultats peuvent être comparés à ceux obtenus chez le chien par P. TANNER et J. MEIER (21). Dans ce cas, la demi-vie du produit est de 120 minutes après administration par voie intraveineuse ou per os. La différence de 25 % observée entre ces deux types d'expériences peut être due à la différence d'espèce animale ou au fait que chez le chien les mesures ont été faites sur 6 prélèvements itératifs pour une durée de 5 heures, alors que dans notre cas pour la même durée de temps le nombre de mesures était beaucoup plus important.

En plus de la détermination des temps de demi-vie des médicaments et dans le cas d'une administration par voie intraveineuse, on a pu

facilement observé le phénomène de dilution de l'indicateur radioactif dans la masse sanguine. Or, ce phénomène a une période inférieure à la minute, ceci montre que la technique de mesure de radioactivité sanguine en continu permet de suivre des variations même très rapides d'une concentration de radioactivité dans le sang.

CHAPITRE II

LES MESURES DE RADIOACTIVITE DU $^{14}CO_2$ EN RADIOTOXICOLOGIE

La recherche d'éventuelles contaminations internes par du ^{14}C chez les travailleurs se fait par détection du ^{14}C dans les urines et du $^{14}CO_2$ dans l'air expiré (22, 23, 24).

Dans le présent chapitre, nous nous sommes intéressés à la détection du $^{14}CO_2$. Les mesures à effectuer dans ce cas ne nécessitent pas d'étude cinétique et sont réalisées sur des échantillonnages prélevés sur le lieu de travail des personnes à contrôler. Un système de mesure en continu, quoique adaptable, ne présente pas d'intérêt véritable.

La technique de mesure la plus souvent utilisée, consiste à transformer le CO_2 en carbamate de hyamine, ou de phényléthylamine (25, 26), puis à mesurer sa radioactivité par scintillation en milieu liquide. L'utilisation de hyamine présente les inconvénients suivants : prix élevé, tendance à produire de la chimiluminescence et difficultés d'obtenir des résultats exprimés en radioactivité spécifique. Ces inconvénients peuvent être facilement surmontés en piégeant le $^{14}CO_2$ sous forme de $Ba^{14}CO_3$ dont la masse et la radioactivité peuvent ensuite être mesurées. J.A. KORNBLATT et coll. (27), après pesée du $Ba^{14}CO_3$, le décomposent par l'acide chlorhydrique et piègent le $^{14}CO_2$ dans de l'éthanolamine dont ils mesurent la radioactivité en scintillation liquide. Cette étape de décomposition du $Ba^{14}CO_3$ et piégeage du $^{14}CO_2$ ne se justifie que si le comptage en scintillation liquide

des précipités de $Ba^{14}CO_3$ est impossible par suite de variation du phénomène d'auto-adsorption des particules β^-, suivant l'état des préparations.

Désirant déterminer la radioactivité spécifique du $^{14}CO_2$, nous avons évidemment retenu la méthode de piègeage sous forme de $Ba^{14}CO_3$ et avons cherché à mettre en évidence une éventuelle influence de l'état des préparations du carbonate sur les résultats de mesure. D'autre part, le problème qui se pose, dans tout contrôle radiotoxicologique, est celui d'une mesure de faible radioactivité. Dans le cas du CO_2 la Commission Internationale de Protection Radiologique (28) recommande une limite de détection de 10 picocuries par litre d'air expiré. Un dispositif de comptage ne peut donc être utilisé que s'il permet d'atteindre ce seuil de détection. Pour deux types de compteur : compteurs à scintillation liquide et Geiger-Müller, nous avons déterminé les seuils de détection et les avons comparés à la valeur limite recommandée.

1. MATERIEL ET PRODUITS

Trois compteurs à scintillation liquide ont été utilisés : un compteur Intertechnique 4221, deux compteurs Packard : les modèles 3380 et 460c. Le compteur Intertechnique 4221 comporte un amplificateur logarithmique commun aux trois voies de mesure. La largeur des voies de mesure est soit prédéterminée, soit réglée manuellement. Le compteur Packard 3380 est un appareil à amplificateurs linéaires. Pour chaque canal de mesure, il est nécessaire de régler le gain et la largeur de la fenêtre. Le compteur Packard 460c est également un appareil à amplificateurs linéaires, mais le seul réglage à effectuer est celui des seuils du canal de mesure. Le compteur Geiger-Müller est un compteur Tracer-Lab Omniguard AC-2 à circulation de gaz, équipé d'une fenêtre ultra-mince en mylar (150 $\mu g/cm^2$). La pente du plateau est de 0,3 %.

Les filtrations des précipités de $Ba^{14}CO_3$ sont effectuées sur un dispositif de filtration Stérifix de Millipore. Le diamètre intérieur du système est de 47 millimètres. La solution de baryte est préparée avec du

baryum hydroxyde RP normapur Prolabo et de l'eau distillée bouillie, refroidie à l'abri de l'air. La solution saturée est filtrée au moment de l'emploi. L'étalon de $Ba^{14}CO_3$ a une radioactivité spécifique de $8,1 \times 10^2$ dpm/mg ± 5 % et provient de New England Nuclear (Boston USA). L'étalonnage ayant consisté en une mesure de radioactivité par scintillation en milieu liquide après dissolution du $Ba^{14}CO_3$ dans l'EDTA 0,05 M selon la technique décrite par P.O. LARSEN (29).

2. MODE OPERATOIRE ET RESULTATS

Dans la procédure que nous avons utilisée le prélèvement d'air expiré se fait suivant la technique de COOK et DANCER (30). L'échantillon est recueilli hors de la zone de travail. Après inspiration normale, le sujet effectue une expiration forcée dans un ballon de polyéthylène de 5 litres (5 litres représentent la capacité vitale moyenne de l'homme). Dès l'arrivée en laboratoire les ballons sont connectés à une rampe sous dépression. La vitesse d'aspiration est ajustée pour vider le ballon en 20 minutes. L'air barbote dans un flacon laveur de Durand contenant 50 ml d'une solution de baryum hydroxyde, saturée, filtrée au moment de l'emploi. Lorsque le ballon est vidé, le flacon Durand est immédiatement démonté. La totalité du précipité de $BaCO_3$ est filtrée sous vide, sur un filtre Durieux n° 111 bleu, Médiafiltran monté sur un dispositif Stérifix. Le précipité est lavé à l'eau décarbonatée puis à l'éthanol absolu froid. Le vide est maintenu quelques minutes après la fin du lavage. L'ensemble Stérifix est ensuite placé à l'étuve à 40 °C, pendant 15 minutes environ. Le séchage peut être accéléré par un lavage à l'acétone si le système de filtration est en verre. Les couches de $BaCO_3$ obtenues sont bien planes et assez solides pour être manipulées.

Dans le cas des comptages par scintillation liquide, les couches sont détachées de leur support et pesées dans des fioles à scintillation (31). Pour un homme standard ayant une capacité vitale de 5 litres d'air et une teneur de 4 % en CO_2, dans l'air expiré, la masse de $BaCO_3$ recueillie serait de 1,756 g dans des conditions normales. Les pertes occasionnées par les manipulations successives ne nous ont pratiquement pas permis

d'obtenir cette valeur théorique. Les masses de $BaCO_3$ le plus souvent obtenues se situent aux environs de 800 mg.

Les mesures de radioactivité en scintillation liquide s'effectuent en présence de 5 ml de liquide scintillant "Lipoluma". L'appareil utilisé est un compteur Intertechnique SL 4221. La fenêtre de comptage est réglée manuellement avec une source de ^{14}C se présentant sous forme de $Ba^{14}CO_3$. Si l'on utilise le prérèglage "^{14}C" prévu sur l'appareil, le rendement de comptage est diminué d'environ 35 %. Ceci s'explique lorsque l'on compare les spectres de distribution des impulsions électriques provenant de la détection de ^{14}C se trouvant soit sous forme de $Ba^{14}CO_3$, soit incorporé à une molécule organique en solution dans le liquide scintillant (fig. 10). Dans le premier cas ($Ba^{14}CO_3$) le spectre est décalé vers les faibles amplitudes. Ce déplacement de spectre a également été observé sur les compteurs Packard 3380 et 460c (fig. 11). Cependant, pour le Packard 3380, si le règlage du gain est effectué avec un échantillon de ^{14}C en solution organique, les pertes de comptage sont peu importantes. Pour le compteur Packard 460c le règlage des seuils du canal de mesure s'effectue en affichant les valeurs extrêmes de l'énergie des particules β^- émises ; pour le ^{14}C ces valeurs sont 0 et 160 keV, ce qui convient parfaitement quelle que soit la forme chimique du ^{14}C.

TURNER a montré que l'auto-adsorption du rayonnement β^- dans le $Ba^{14}CO_3$ est constante quelle que soit la granulométrie des particules (32). Nous avons vérifié avec un carbonate de radioactivité donnée, que l'activité mesurée est bien proportionnelle à la masse de carbonate contenue dans l'échantillon. Cette vérification a été faite pour du $Ba^{14}CO_3$ en cristaux (fig. 12 A) et pour du $Ba^{14}CO_3$ se présentant en couches de 100 à 900 mg (fig. 12 B). Ces derniers échantillons ont été préparés avec une suspension de $Ba^{14}CO_3$ obtenue en piègeant le $^{14}CO_2$ expiré par un rat auquel il avait été injecté 0,5 nCi d'acétate de sodium [^{14}C-1] par voie intrapéritonéale (33).

Pour le compteur Intertechnique 4221, le rendement de comptage a été déterminé à l'aide de $Ba^{14}CO_3$ étalonné ; il est de 0,85 ± 0,02. Lors des

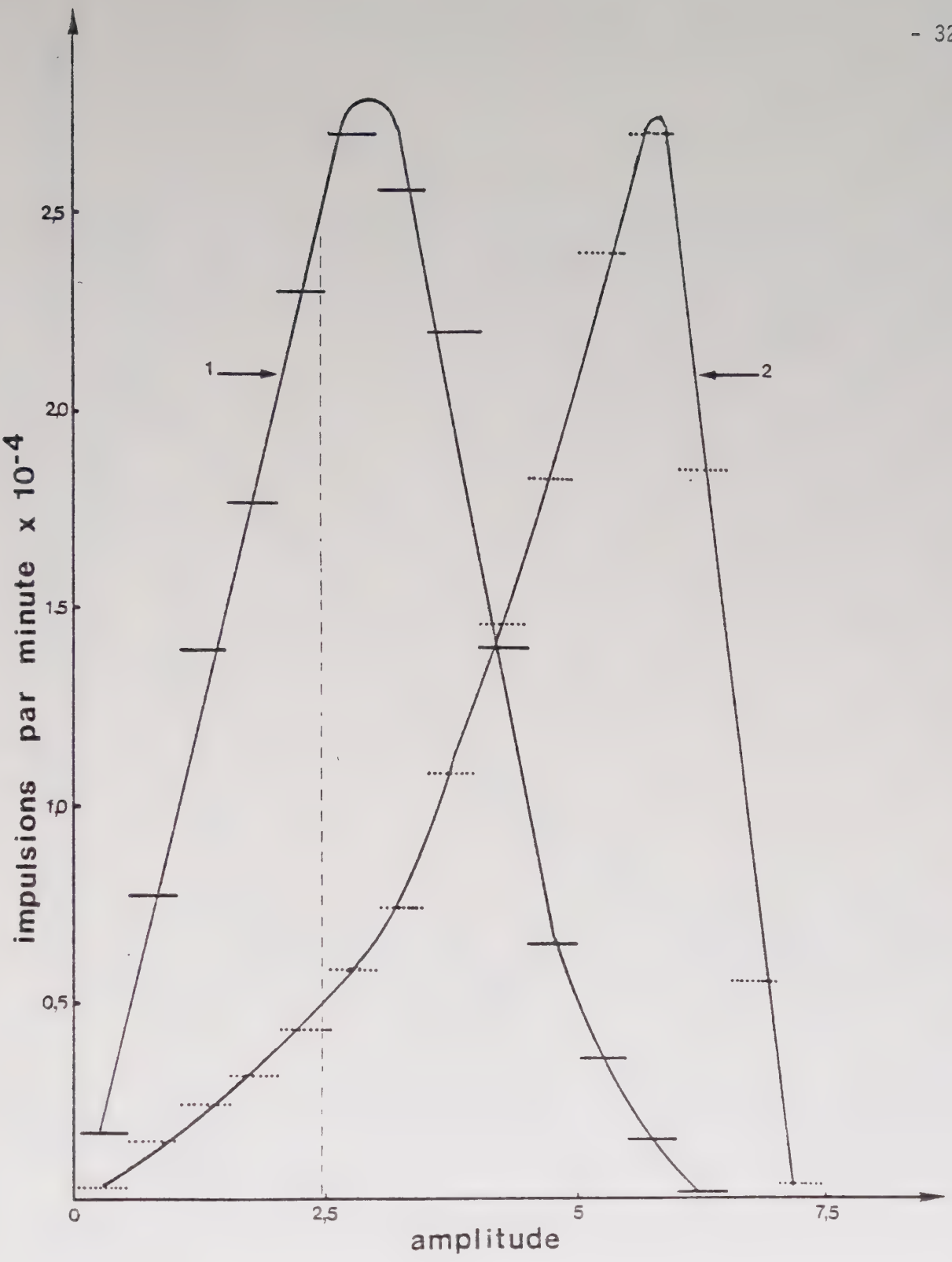


Figure 10 : Spectres de distribution des impulsions électriques provenant de la détection par scintillation liquide, des β^- émis par le ^{14}C.

Détection avec un compteur à scintillateur liquide Intertechnique 4221, le ^{14}C se trouvant sous forme de $Ba^{14}CO_3$ (1) ou sous forme de ^{14}C-organique (2). La ligne verticale en tirets indique l'amplitude à laquelle est situé le seuil inférieur du canal ^{14}C préréglé par le constructeur.

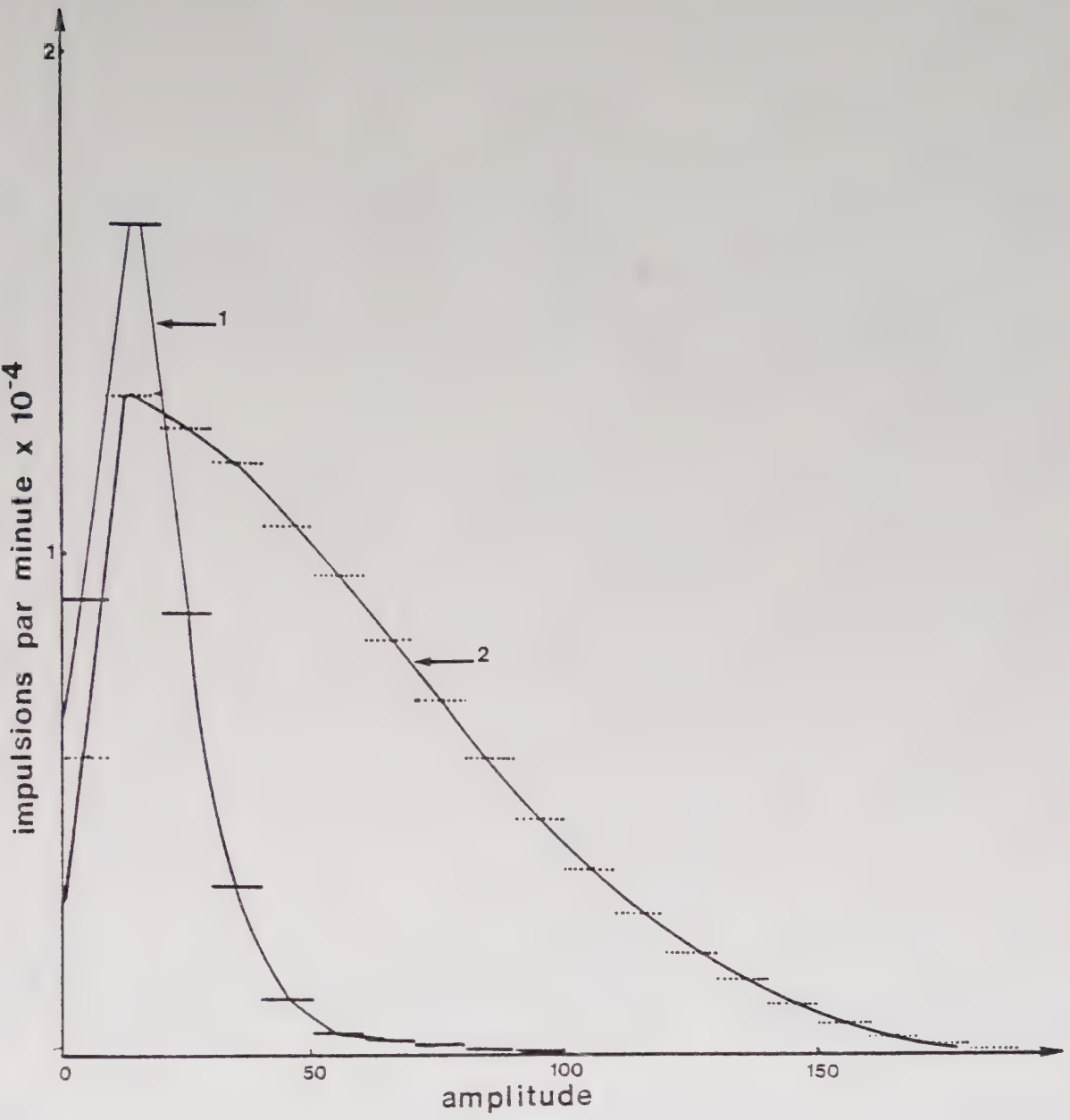


Figure 11 : Spectres de distribution des impulsions électriques provenant de la détection par scintillation liquide, des β^- émis par le ^{14}C.

Détection avec un compteur Packard 460c. Le ^{14}C se trouvant sous forme de $Ba^{14}CO_3$ (1) ou sous forme de ^{14}C-organique (2).

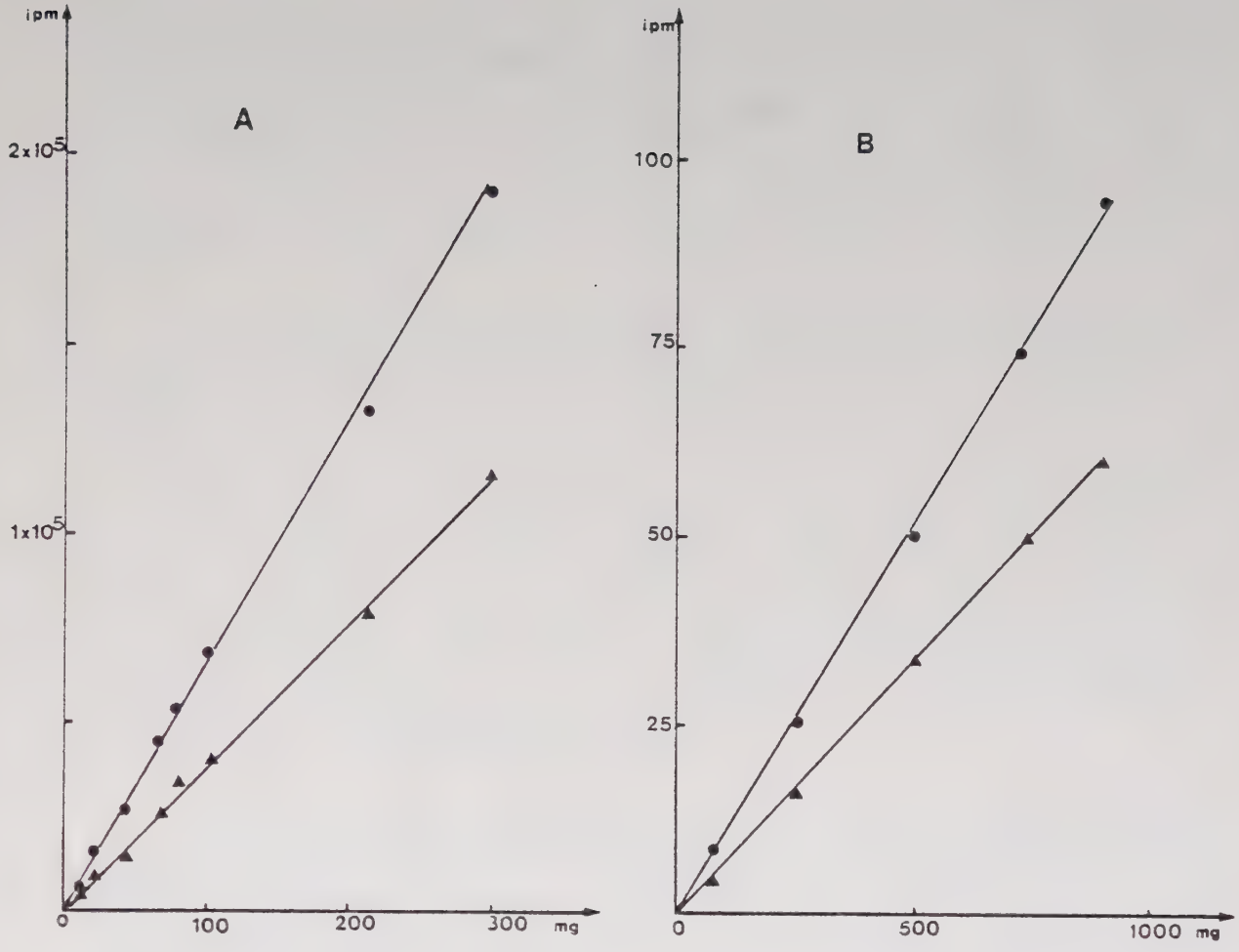


Figure 12 : Proportionnalité entre la radioactivité mesurée et la masse de $Ba^{14}CO_3$.

A - les radioactivités de masses croissantes de $Ba^{14}CO_3$ étalonné ($8,1 \times 10^3$ dpm/mg) sont mesurées avec le compteur Intertechnique 4221 dans un canal réglé manuellement (•) et dans le canal préréglé ^{14}C (▲).

B - couches de $Ba^{14}CO_3$ préparé à partir de $^{14}CO_2$ expiré par un rat ; les masses des couches de $Ba^{14}CO_3$ varient de 100 à 900 mg. Les règlages des canaux sont les mêmes que ceux décrits en (A).

mesures de routine la valeur du rendement de comptage est introduite dans le calculateur associé au compteur, ceci permet l'expression directe des résultats en radioactivité réelle (désintégrations par minute). Cette radioactivité rapportée à la masse de $Ba^{14}CO_3$ mesurée conduit à une radioactivité spécifique (désintégrations par minute par mg de $Ba^{14}CO_3$). Les résultats sont ensuite exprimés en radioactivité par litre d'air expiré.

Le mouvement propre est mesuré à l'aide d'une fiole contenant une couche d'environ 800 mg de $BaCO_3$ non radioactif et 5 ml de lipoluma. Sa valeur est de 38 ± 4 impulsions par minute.

La radioactivité des couches de $Ba^{14}CO_3$ a également été mesurée au moyen d'un compteur Geiger-Müller à fenêtre mince, à bas bruit de fond. Dans ce cas pour des couches de $Ba^{14}CO_3$ de 800 mg et de masse superficielle 60 mg/cm^2 environ, l'efficacité de comptage avant correction d'auto-adsorption est de 0,01 et 0,17 après correction * ; le mouvement propre étant de 2,5 ± 0,2 impulsions par minute.

Pour les mesures ultérieures en routine, le choix entre ces deux types de compteur s'est fait en comparant leur seuil de détection à la limite recommandée par la Commission Interministérielle de Protection Radiologique. Cette valeur limite de détection est de 10 picocuries par litre d'air expiré soit 10 picocuries pour 0,355 g de $BaCO_3$. Le fait que les prélèvements utilisés aient une masse d'environ 0,800 g donne comme limite de détection 20 picocuries par échantillon. Pour calculer le seuil de

---

* La correction d'auto-adsorption a été calculée à l'aide de la formule suivante :

$$A_x = \frac{A_0(1-e^{-\mu x})}{\mu x}$$

A_x = nombre d'impulsions mesurées

A_0 = nombre d'impulsions corrigé de l'auto-adsorption

μ = 0,29 pour $BaCO_3$, x = l'épaisseur massique

détection des deux types de compteur nous avons utilisé la formule donnée par la CETAMA* : (34)

$$Sd = 1,6 \times 10^6 \frac{1}{\varepsilon} \sqrt{\frac{MP}{t}} \ \mu Ci$$

où ε = le rendement de détection du compteur pour le type d'échantillon considéré, MP = mouvement propre en minutes et t = temps de comptage. Ce seuil de détection est donné pour des risques $\alpha = \beta = 10$ % ; α est le risque de conclure à tort que l'activité de la source n'est pas nulle alors qu'elle l'est et β le risque de conclure que l'activité de la source est nulle alors qu'elle est égale au seuil de détection.

Cette formule appliquée aux résultats obtenus avec le compteur à scintillation liquide pour $\varepsilon = 0,85$, MP = 40 et t = 5 minutes fournit un seuil de détection de 5,30 pCi, c'est-à-dire un seuil presque 4 fois inférieur à la limite recommandée. La courbe de la figure 13 montre la variation du seuil de détection en fonction du temps de comptage. L'application de cette même formule aux résultats obtenus avec le compteur Geiger-Müller pour lequel on a $\varepsilon = 0,01$, MP = 2,5 et t = 30 minutes conduit à un seuil de détection de seulement 46 pCi. L'abaissement du seuil de détection peut être obtenu en augmentant le temps de mesure ; mais en fait les calculs montrent que pour atteindre un seuil de 20 pCi, la durée de la mesure devrait être de 150 minutes, ce qui n'est évidemment pas compatible avec les conditions de travail en radiotoxicologie. Il a été envisagé de réduire l'épaisseur massique des couches de $Ba^{14}CO_3$ d'un facteur 10 afin de diminuer l'auto-adsorption ; mais dans ce cas la limite de détection à atteindre est divisée par 10 tandis que l'efficacité de comptage est multipliée seulement par 8. Le temps de comptage devrait être de 200 minutes. Le fait de réduire la masse de l'échantillon n'est donc pas favorable.

---

*CETAMA : Commission d'Etablissement des Méthodes d'Analyses du Commissariat à l'Energie Atomique.

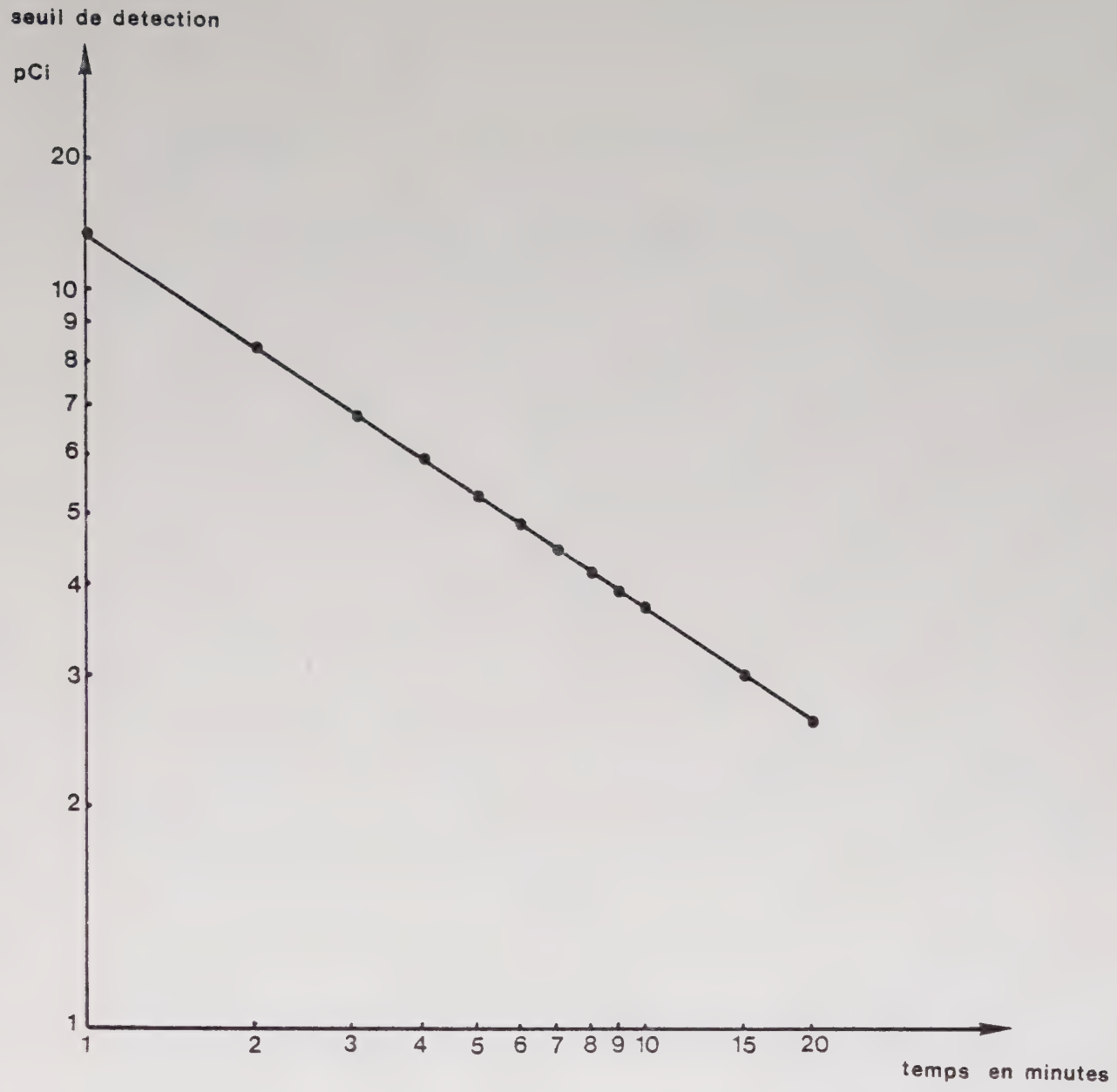


Figure 13 : Variation du seuil de détection en fonction du temps de comptage.

Pour le compteur Intertechnique 4221, à l'aide de la formule

$Sd = 1{,}6 \times 10^6 \frac{1}{\varepsilon} \sqrt{\frac{MP}{t}}$ µCi où $\varepsilon = 0{,}85$ et $MP = 40$, on a calculé le seuil de détection en fonction du temps de comptage. Pour les mesures de routine le temps choisi est : 5 minutes ; temps pour lequel le seuil de détection est environ 4 fois moins que celui recommandé par l'ICRP.

3. CONCLUSION

En radiotoxicologie, la transformation du $^{14}CO_2$ expiré, en $Ba^{14}CO_3$ présente de nombreux avantages par rapport aux techniques utilisant la hyamine ou la phényléthylamine. Du fait de l'insolubilité du carbonate formé il peut être pesé et les résultats de mesure peuvent être exprimés en radioactivité spécifique. A partir de cette donnée il est facile de calculer la radioactivité spécifique du $^{14}CO_2$ et de l'exprimer en pCi par litre d'air expiré, conformément aux recommandations de l'ICRP. Pour un même temps de mesure, le seuil de détection atteint est plus bas lorsque le ^{14}C est détecté sous forme de $Ba^{14}CO_3$: en effet, le rendement de comptage est de 0,85 pour le carbonate, 0,59 pour le $^{14}CO_2$ piégé dans la hyamine et de 0,64 dans la phényléthylamine (26). La précaution à respecter lors de la préparation des couches de $Ba^{14}CO_3$ est leur complète déshydratation, afin que lors des mesures de radioactivité le mélange scintillant pénètre parfaitement dans toute l'épaisseur de la couche de carbonate de baryum. Contrairement au piégeage dans une amine quaternaire, il n'y a pas avec le $Ba^{14}CO_3$ de risque de chimiluminescence ; la radioactivité des échantillons peut donc être mesurée immédiatement après leur préparation.

Sous forme de $Ba^{14}CO_3$, les échantillons sont chimiquement stables, ils peuvent être conservés dans le but d'un éventuel contrôle ultérieur comme le recommande le SCPRI *. Un dernier facteur, toujours en faveur de l'utilisation de la baryte est le prix de revient des échantillons ; celui-ci est bien supérieur dans le cas où l'on piège le $^{14}CO_2$ dans une amine.

---

* SCPRI : Service Central de Protection contre les Rayonnements Ionisants

CHAPITRE III

LES MESURES DE RADIOACTIVITE DU $^{14}CO_2$ CONTENU DANS L'AIR EXPIRE PAR UN ANIMAL

Quand un composé d'intérêt métabolique ou pharmacologique marqué au ^{14}C est injecté à un animal, certaines réactions de dégradation peuvent conduire à une excrétion de $^{14}CO_2$. La mise en évidence d'une telle voie de dégradation et la mesure de la vitesse d'élimination du $^{14}CO_2$ sont des informations biologiques auxquelles on peut avoir accès par la mesure de radioactivité du $^{14}CO_2$ expiré par l'animal. Cette mesure peut se faire par scintillation liquide après absorption du $^{14}CO_2$ dans de la baryte, ceci comme on l'a vu précédemment, ou bien par absorption du $^{14}CO_2$ dans une solution de potasse 10 N (35), de soude (36), de hyamine 10 X (37, 38), de 2-phényléthylamine (39) ou par condensation à basse température (40, 41). Cependant pour des études cinétiques qui impliquent de très nombreuses mesures il est préférable d'effectuer celles-ci en continu. Dans ce but, un certain nombre de méthodes ont été décrites. G.V. LEROY et coll. (42) utilisent comme détecteur un compteur Geiger-Müller à circulation gazeuse. Le compteur est traversé par un flux gazeux qui est composé d'une part du gaz de détection (hélium et traces d'éthanol) et d'autre part du $^{14}CO_2$ à mesurer. L'inconvénient de ce système est d'être sensible aux variations de débit des gaz qui traversent le compteur. F. CHEVALLIER et coll. (3) ont mis au point une technique qui consiste à faire circuler le $^{14}CO_2$ expiré par un rat à travers une chambre d'ionisation dont le fonctionnement n'est pas modifié par des variations du débit gazeux, au moins dans l'intervalle de 1 à 2 litres par minute.

S. SUZUKI et coll. (43) ont développé un autre moyen de comptage en continu en utilisant un compteur à scintillation liquide. Le $^{14}CO_2$ est piégé dans 250 ml de mélange scintillant qui renferme 10 % de hyamine. L'accroissement de radioactivité de ce mélange est mesuré, en circuit fermé par scintillation liquide. Ce dispositif en plus de sa complexité présente l'inconvénient de fournir un résultat sous la forme d'une courbe d'accumulation de radioactivité et ne permet pas de déterminer la radioactivité spécifique du $^{14}CO_2$.

Le procédé que nous avons mis au point utilise également un compteur à scintillation liquide et permet d'effectuer des mesures en continu. Le système détecteur est constitué par une fiole type barboteur qui renferme du liquide scintillant à travers lequel le gaz radioactif ($^{14}CO_2$) est envoyé. La fiole est placée entre les deux photomultiplicateurs du compteur. C'est lors du barbotage du gaz à travers le liquide scintillant, dans lequel il ne se fixe pas, que la mesure de radioactivité s'effectue. L'adjonction, à cette installation, d'un analyseur de CO_2 et d'un système électronique capable d'effectuer le rapport entre le résultat de la mesure de radioactivité et la quantité de CO_2 qui traverse le détecteur, permet d'obtenir un résultat exprimé en radioactivité spécifique.

Nous avons contrôlé la validité de ce système de détection en mesurant la cinétique d'élimination du $^{14}CO_2$, après administration d'acétate ^{14}C, en continu et par méthode itérative. Les résultats obtenus ont été comparés. Nous avons également détecté, en continu, le $^{14}CO_2$ expiré par un animal à la suite de l'administration d'un médicament marqué par du ^{14}C.

1. DESCRIPTION DU DISPOSITIF EXPERIMENTAL

La fiole de comptage est faite en verre Pyrex, elle est cylindrique et a 28 mm de diamètre et 47 mm de haut. Elle comporte un bouchon rodé traversé par deux tubulures : l'une terminée par un disque de verre fritté n° 0 permet au gaz de déboucher dans le fond de la fiole, l'autre tubulure est située en haut de la fiole et sert à l'évacuation du gaz (fig. 14).

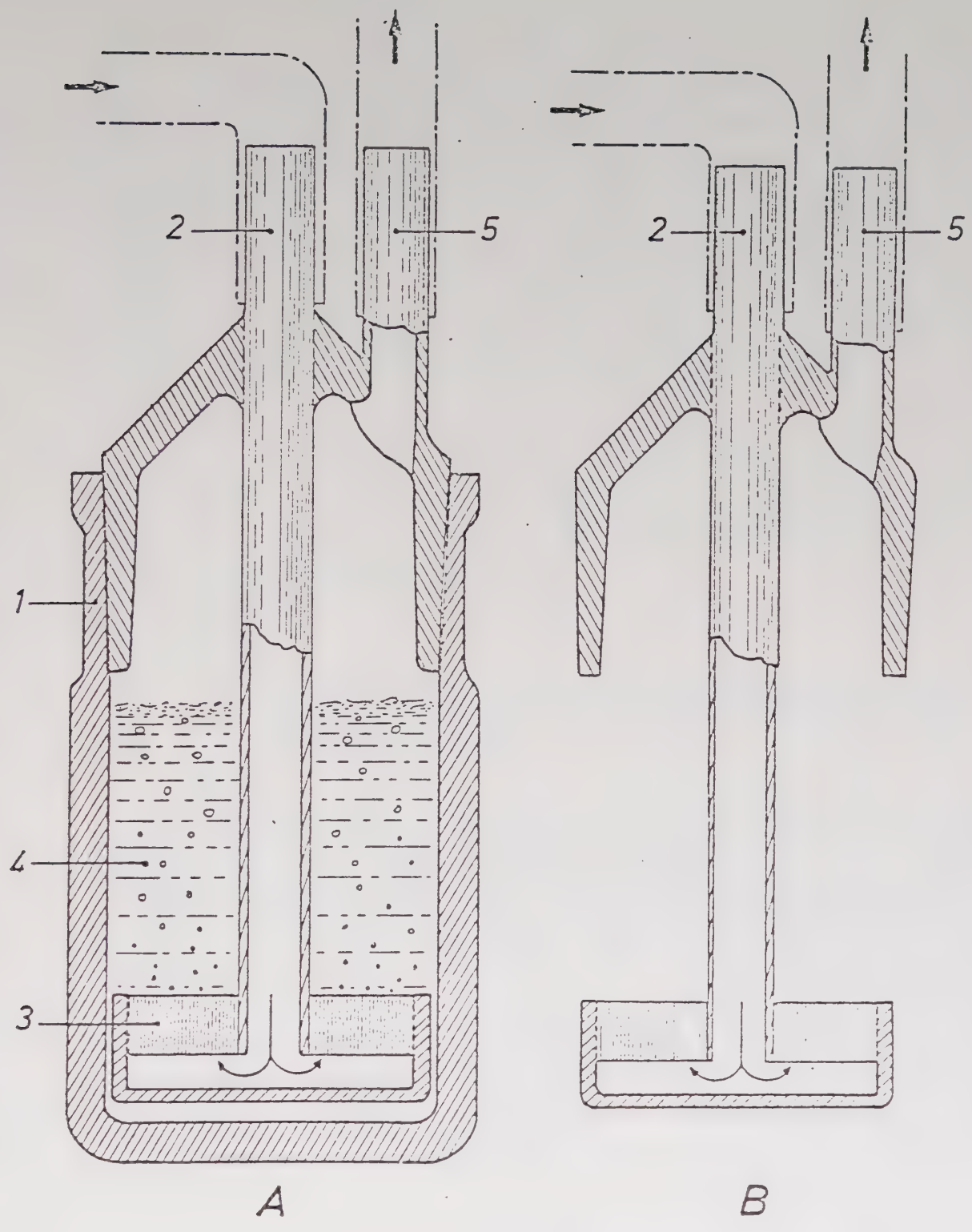


Figure 14 : Coupe de la fiole de comptage

A : fiole avec le bouchon
B : bouchon

1 : corps de la fiole - 2 : tubulure d'entrée du gaz - 3 : disque de verre fritté n° 0 - 4 : liquide scintillant - 5 : tubulure de sortie du gaz.

La fiole renferme environ 13 ml de liquide scintillant de composition suivante : 4 g de PPO*, 0,1 mg de diméthyl POPOP** pour 1 litre de toluène. La tubulure d'entrée du gaz de la fiole est reliée à la cage à métabolisme dans laquelle est placé l'animal qui expire du $^{14}CO_2$. La circulation du gaz est assurée par une pompe péristaltique qui est placée en aval de la sortie de la fiole de comptage. Les connexions sont faites au moyen de tube plastique résistant aux vapeurs de toluène et peint en noir ou bien entouré d'une gaine opaque à la lumière afin d'éviter une infiltration de celle-ci jusqu'aux photomultiplicateurs (fig. 15).

Le débit de gaz à travers la fiole est réglé au moyen de la pompe péristaltique et peut varier de 0 à 50 ml. min^{-1}. La fiole ainsi raccordée est placée entre les deux photomultiplicateurs d'un compteur à scintillateur liquide (Intertechnique SL 20).

2. RESULTATS

A - Détermination de l'efficacité de détection du $^{14}CO_2$ dans la fiole de comptage

Un volume de 50 µl de solution de $Na^{14}CO_3$ (0,5 µCi) est décomposé par de l'HCl afin d'obtenir du $^{14}CO_2$. La décomposition se fait dans un erlenmeyer. Le CO_2 est entraîné dans la fiole de comptage par aspiration à l'aide d'une pompe péristaltique et renvoyé dans l'erlenmeyer afin de constituer un circuit fermé.

L'efficacité de comptage est calculée en tenant compte des volumes de l'ensemble du circuit et de la quantité de gaz qui a traversé le détecteur pendant la durée de la mesure. Dans ce système de comptage, l'efficacité de détection du $^{14}CO_2$ est de 88 ± 2 %.

---

* PPO : 2,5 diphényloxazole

** diméthyl POPOP : 2,2'-p-phénylen-bis (5, phényl-oxazole)

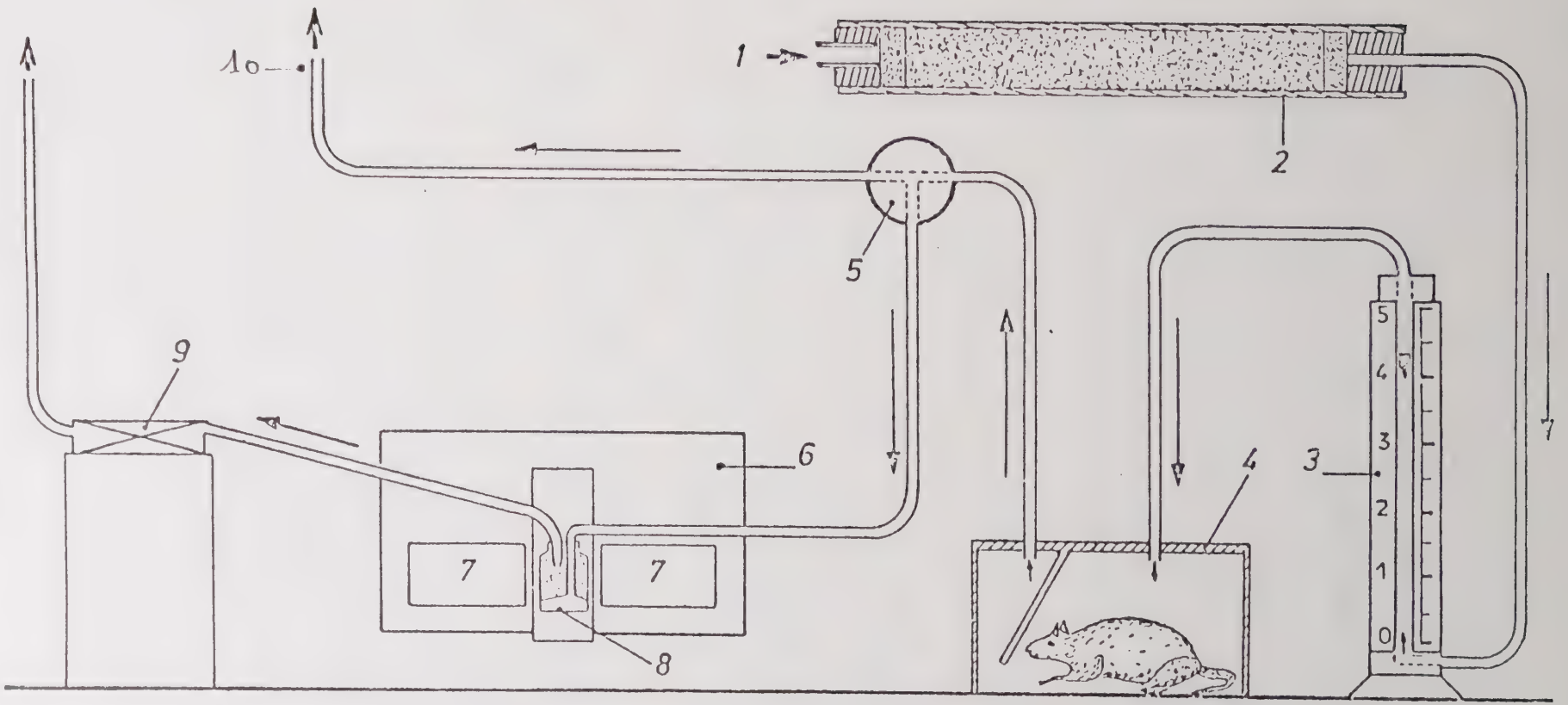


Figure 15 : Schéma complet du dispositif expérimental

1 : prise d'air extérieur ; 2 : chaux sodée ; - 3 : débitmètre ; 4 : cage à métabolisme ; 5 : robinet à 3 voies ; 6 : compteur à scintillation liquide ; 7 : photomultiplicateurs ; 8 : fiole de comptage ; 9 : pompe ; 10 : vers le dispositif d'absorption du $^{14}CO_2$ dans la baryte.

B - Temps de réponse du détecteur

Le temps de réponse du dispositif de comptage, c'est-à-dire le temps qui s'écoule entre le moment où l'on introduit du $^{14}CO_2$ et celui auquel on observe une élévation de comptage est inférieur à 30 secondes (fig. 16). Inversement, lorsque l'on cesse d'envoyer du $^{14}CO_2$, la radioactivité mesurée chute rapidement, mais lorsqu'elle a atteint plusieurs fois la valeur du mouvement propre, elle décroît lentement et il faut attendre environ 5 minutes pour retrouver la valeur du mouvement propre.

C - Utilisation du dispositif pour la mesure de paramètres biologiques

Le dispositif de mesure de radioactivité en continu a été utilisé pour deux types d'expériences. Le premier type d'expériences a été destiné à contrôler la validité du système et ceci en mesurant la vitesse d'élimination du $^{14}CO_2$ après une injection d'acétate-^{14}C dont on connaissait la valeur à la suite des travaux de M. PASCAUD (44) et F. CHEVALLIER (33) qui ont réalisé ces expériences par des mesures itératives.

Dans le second type d'expériences, nous avons utilisé le dispositif pour la mesure du $^{14}CO_2$ provenant de la dégradation du carbamate d'éthyle-^{14}C carboxyle.

a) Mesure de la vitesse de renouvellement du $^{14}CO_2$

La vitesse de renouvellement du $^{14}CO_2$ a été déterminée chez un rat auquel il a été injecté de l'acétate-^{14}C-1. Les mesures ont été exprimées sous forme de radioactivité spécifique du $^{14}CO_2$ expiré, parallèlement par la méthode de mesure en continu et par piégeage du $^{14}CO_2$ dans de la baryte.

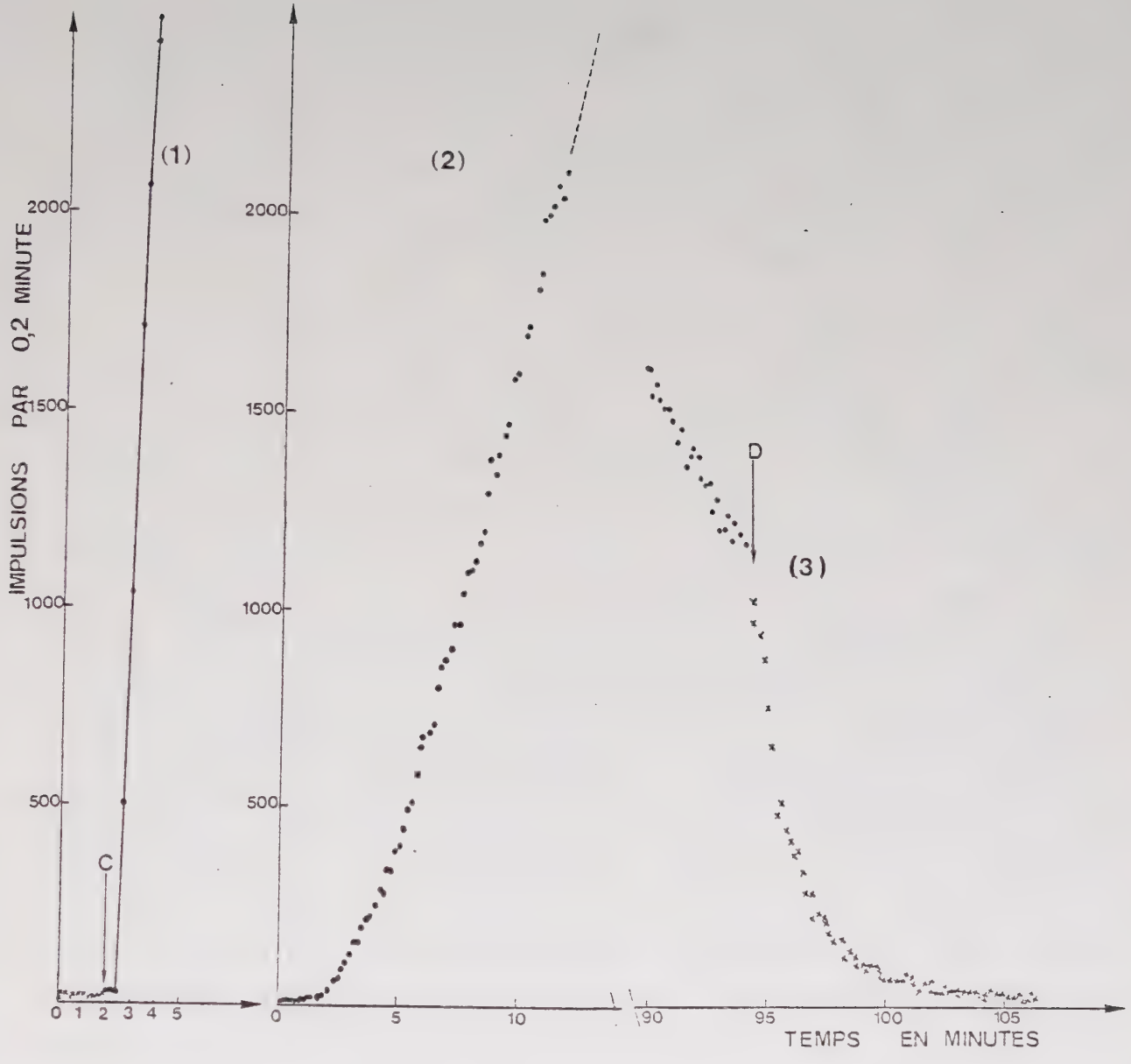


Figure 16 : Vitesse de réponse du dispositif de comptage. (1) Après une période de 2 mn pendant laquelle le mouvement propre est mesuré, du $^{14}CO_2$ est introduit par le tube plastique conduisant au détecteur (↓C). La radioactivité commence à être détectée environ 30 sec après l'introduction du $^{14}CO_2$ dans le circuit. (2) Cinétique de détection de la radioactivité du $^{14}CO_2$ expiré par un animal, après une injection d'acétate-^{14}C qui a été faite au temps t = 0. (3) Après être passée par un maximum la radioactivité du $^{14}CO_2$ expiré par l'animal décroît (••••). Au temps 95 mn (↓D) le tube conduisant au détecteur est déconnecté de la cage afin d'interrompre l'arrivée du $^{14}CO_2$: on mesure ainsi la vitesse de décontamination du circuit de gaz et du dispositif de comptage (xxx)

Mode opératoire

A un rat de 350 g on injecte par voie intrapéritonéale, 20 µCi d'acétate-^{14}C-1. L'animal est immédiatement placé dans une cage à métabolisme dont le volume est d'environ 2 litres (fig. 15). L'air entre dans la cage après avoir traversé de la chaux sodée pour être débarrassée du CO_2 atmosphérique. Le débit d'air dans la cage est d'environ 800 ml.min^{-1}. A la sortie de la cage une partie de l'air est envoyée dans la fiole de détection du compteur à scintillation liquide, le débit est de 35 ml.min^{-1}.

Le reste de l'air qui sort de la cage passe dans un flacon laveur contenant de la baryte dans laquelle le $^{14}CO_2$ est piégé. Le flacon est remplacé toutes les 10 minutes. Une partie aliquote du $Ba^{14}CO_3$ formé est recueillie par filtration, lavée et déshydratée par de l'éthanol puis de l'acétone et enfin séchée. La radioactivité des couches est mesurée avec un compteur Geiger-Müller et avec un compteur à scintillation liquide. Le compteur Geiger-Müller est un compteur Tracer-Lab à bas bruit de fond, il comporte une fenêtre de 150 µg.cm^{-2}. Aux mesures sont appliquées les corrections nécessaires pour tenir compte de l'auto-absorption des particules β^- dans la couche de carbonate de baryum. Pour mesurer la radioactivité des couches de $Ba^{14}CO_3$ par scintillation en milieu liquide, on les détache de leur support et on les introduit dans 5 ml de liquide scintillant composé de : toluène, PPO, diméthyl POPOP (1 l, 4 g, 0,1 g). On a montré précédemment (chapitre II.) que l'efficacité de détection n'est influencée ni par la masse superficielle des couches, ni par le fait qu'elles soient plus ou moins brisées. Le compteur à scintillation liquide utilisé est un compteur Intertechnique SL 40. La fenêtre de comptage a été réglée manuellement avec une source de ^{14}C se présentant sous forme de $Ba^{14}CO_3$.

Dans ces premières expériences, il n'a pas été fait d'enregistrement en continu de la radioactivité. Les mesures ont été effectuées par intervalles de temps de 10 minutes, c'est-à-dire un temps identique à celui de la collecte du $^{14}CO_2$ dans la baryte. Néanmoins, le dispositif de mesure en continu permet de choisir des intervalles de temps variables de 0,1 à 100 minutes ou bien d'enregistrer en continu la radioactivité.

De plus, l'analyseur de CO_2 n'étant pas encore disponible pour ces expériences, on a considéré comme constante la concentration en CO_2 de l'air qui traverse la fiole de détection du $^{14}CO_2$. En effet, la production de CO_2 dans la journée varie relativement peu (45).

Afin de réduire le plus possible des variations dues à l'adaptation de l'animal dans la cage à métabolisme, celui-ci y est placé 4 heures avant de recevoir l'injection d'acétate ^{14}C.

Sur la figure 17 on porte les résultats de mesure de la radioactivité spécifique du $^{14}CO_2$ effectuée :

1) en continu (scintillation liquide)

2) après transformation du $^{14}CO_2$ en $Ba^{14}CO_3$ et comptage au Geiger-Müller,

3) après transformation du $^{14}CO_2$ en $Ba^{14}CO_3$ et comptage en scintillation liquide.

Ces résultats montrent que dans les trois cas, on obtient des courbes de décroissance qui sont exponentielles et dont les pentes sont tout à fait comparables. Les trois courbes ne se superposent pas du fait que les radioactivités spécifiques sont exprimées en radioactivités relatives (impulsions par minute). Les écarts entre les courbes sont en rapport avec les différentes efficacités de détection.

Le temps de demi-vie du CO_2 obtenu est de 25 minutes.

Au dispositif de comptage, en continu, il a été, ensuite associé un analyseur de CO_2 à cellule infra-rouge (Beckman Gas Analyzer LB 2). Cet analyseur est branché en parallèle avec la fiole de mesure de radioactivité Les deux types d'informations : mesure de la radioactivité et mesure de la concentration du CO_2 sont envoyés dans un système électronique qui calcule le rapport entre ces deux valeurs. Ceci permet d'obtenir automatiquement

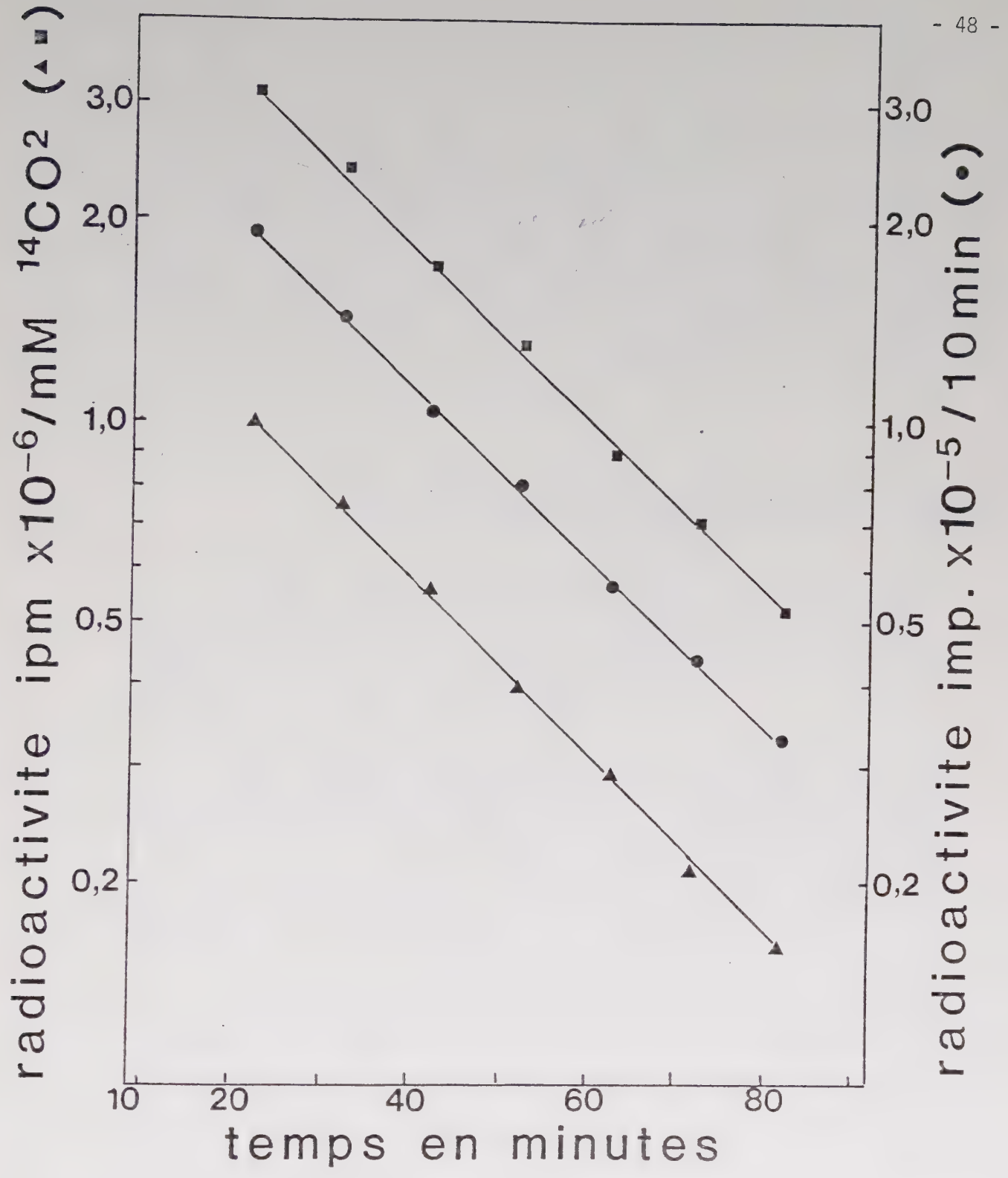


Figure 17 : Variation en fonction du temps de la radioactivité du $^{14}CO_2$ expiré par un rat ayant reçu de l'acétate-^{14}C ; comparaison de différentes méthodes de mesure. La radioactivité spécifique du $^{14}CO_2$ est déterminée : 1) en continu par scintillation en milieu liquide (●) ; 2) après transformation du $^{14}CO_2$ en $Ba^{14}CO_3$ et mesure : au compteur Geiger-Müller (▲) ou par scintillation en milieu liquide (■).

la radioactivité spécifique du $^{14}CO_2$. De plus, le montage électronique comporte un convertisseur linéaire-logarithmique au moyen duquel les radioactivités spécifiques peuvent être exprimées sous forme logarithmique. C'est ce dernier signal qui est enregistré en fonction du temps. La figure 18 montre un enregistrement qui représente la variation du logarithme de la radioactivité spécifique du $^{14}CO_2$ expiré par un rat qui avait reçu une injection intrapéritonéale d'acétate-^{14}C. La demi-vie du CO_2 déterminée graphiquement à partir de ce tracé est de 25 minutes, ce qui est en accord avec les résultats obtenus précédemment.

b) Mise en évidence et mesure du $^{14}CO_2$ éliminé à la suite de l'administration d'un médicament marqué par du carbone-14

Lorsqu'en pharmacocinétique un médicament est marqué par du ^{14}C, l'utilisation du détecteur décrit permet de mettre en évidence, une voie de dégradation conduisant à la formation de $^{14}CO_2$. De plus on peut suivre la cinétique de la production de ce $^{14}CO_2$.

Dans le but de donner un exemple d'une telle application, on a choisi comme composé d'intérêt pharmaceutique le carbamate d'éthyle-^{14}C carboxyle (uréthane-^{14}C) : $H_2N-\overset{*}{\underset{\underset{O}{\|}}{C}} - O - CH_2 - CH_3$; E. BOYLAND et coll. (46) ayant signalé que le CO_2 constitue un des produits du métabolisme de ce composé.

A un rat mâle adulte de 350 g, on a administré par voie intrapéritonéale 30 µCi de carbamate d'éthyle-^{14}C, dont la radioactivité spécifique est de 30 mCi/mM. Le rat est aussitôt placé dans la cage à métabolisme, laquelle est reliée au système de détection en continu. Environ le vingtième du volume d'air qui traverse la cage est envoyé dans le système détecteur de radioactivité.

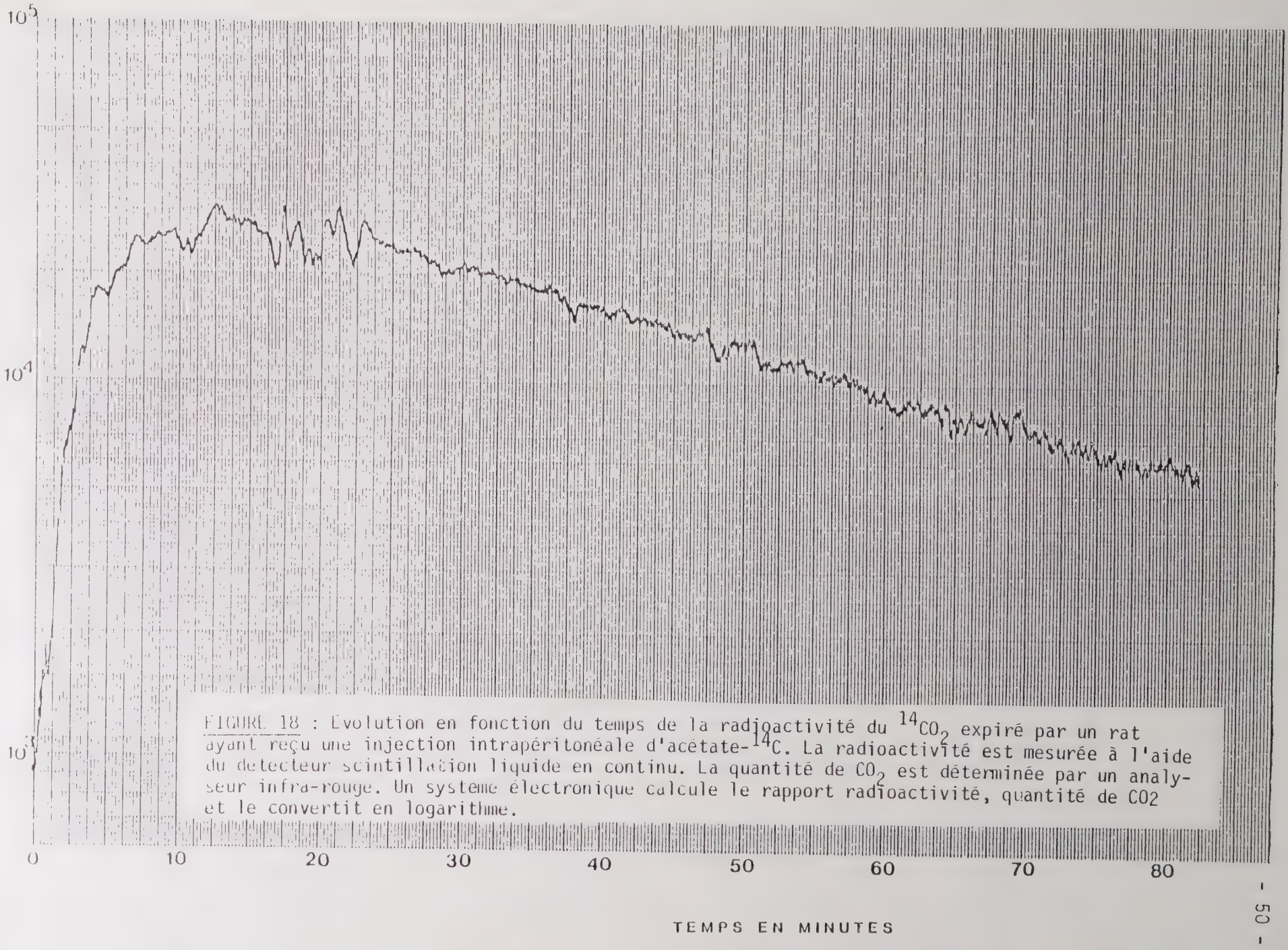


FIGURE 18 : Evolution en fonction du temps de la radioactivité du $^{14}CO_2$ expiré par un rat ayant reçu une injection intrapéritonéale d'acétate-^{14}C. La radioactivité est mesurée à l'aide du detecteur scintillation liquide en continu. La quantité de CO_2 est déterminée par un analyseur infra-rouge. Un systeme électronique calcule le rapport radioactivité, quantité de CO_2 et le convertit en logarithme.

L'excrétion du $^{14}CO_2$ a été suivie pendant 23 heures. Ce temps étant trop long pour permettre une sortie graphique des résultats, ceux-ci ont été simplement affichés sous forme numérique. Les mesures sont faites par intervalles de temps de 10 minutes. Afin de ne pas rejeter dans l'atmosphère de $^{14}CO_2$, tout l'air qui a traversé la cage est envoyé dans un flacon barboteur contenant de la baryte.

Les résultats de cette expérience sont reportés sur le graphique de la figure 19. Ils représentent l'évolution de la radioactivité par intervalles de temps de 10 minutes et ceci pour une durée totale de 23 heures. Ces résultats montrent que du $^{14}CO_2$ est apparu dès la première mesure, c'est-à-dire entre 0 et 10 minutes, après l'injection. La radioactivité croît pendant deux heures environ, puis décroît. La décroissance de la radioactivité peut être décomposée en deux exponentielles : la première a un temps de demi-vie de 2 h 50 et s'étend sur 15 heures, la deuxième a une demi-vie de 13 h 50. Tandis que la première exponentielle correspond à la métabolisation du carbamate d'éthyle, la seconde pourrait correspondre à l'excrétion de $^{14}CO_2$ produit à partir d'un ou de plusieurs métabolites. Ces résultats confirment que le carbamate d'éthyle est largement excrété sous forme de gaz carbonique puisque près de 60 % de la radioactivité injectée sont éliminés sous forme de $^{14}CO_2$.

3. DISCUSSION

Ce détecteur destiné au comptage du $^{14}CO_2$ est directement adaptable dans un compteur à scintillation liquide, appareil qui équipe déjà la plupart des laboratoires de biologie et de pharmacocinétique. Ceci ne nécessite donc pas l'acquisition d'appareillage nouveau.

Grâce à un faible volume de la cellule de mesure et des espaces morts le temps de réponse du détecteur est court : 30 secondes ; il permet ainsi l'étude cinétique de phénomènes relativement rapides. Le fonctionnement est entièrement automatique. Un emploi continu pendant 24 heures

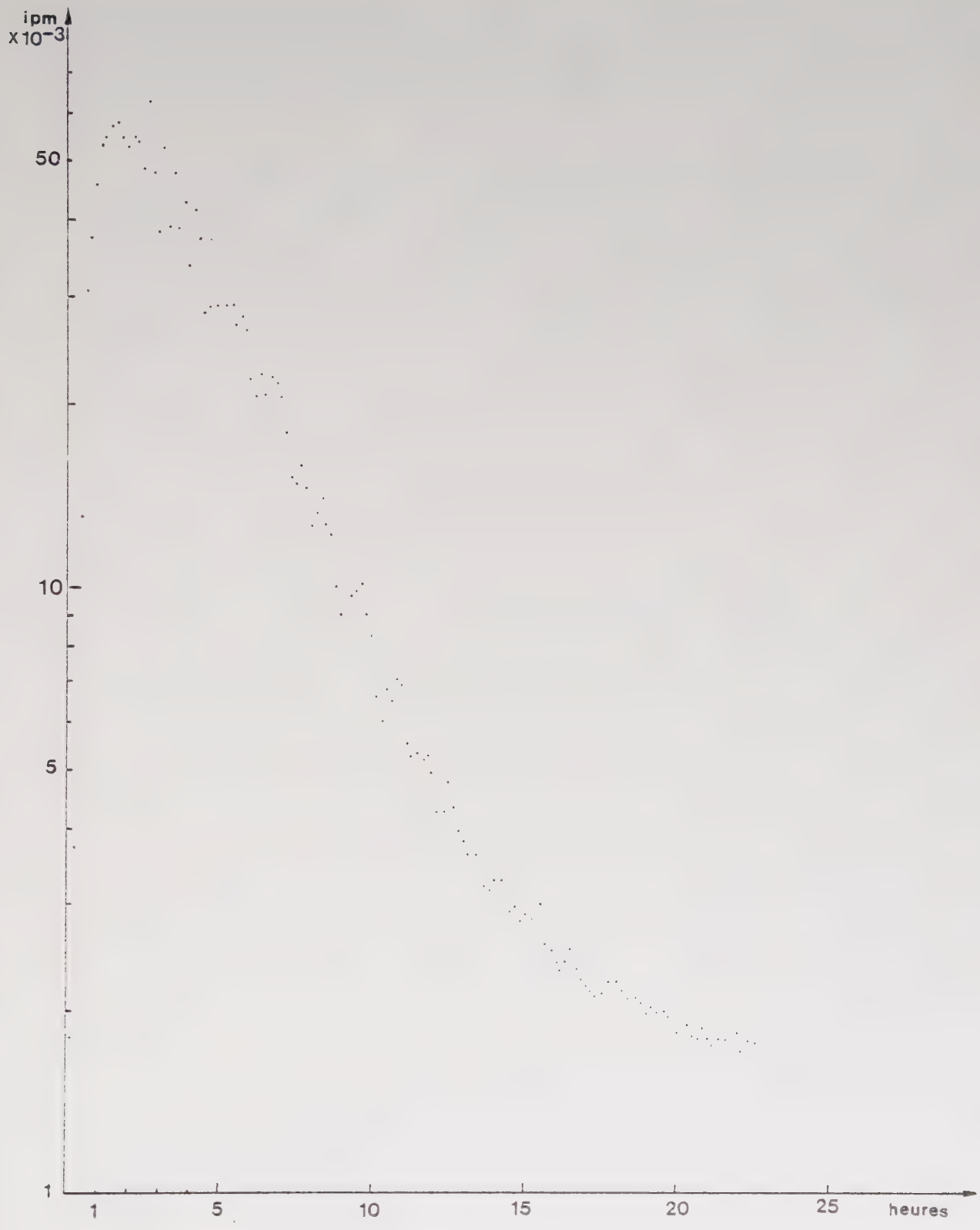


Figure 19 : Evolution en fonction du temps de la radioactivité du $^{14}CO_2$ expiré par un rat ayant reçu 30 µCi de carbamate d'éthyle ^{14}C par voie intrapéritonéale.

n'entraîne pratiquement pas de diminution du volume de liquide scintillant. Ce fait est important car une diminution non négligeable du volume entraînerait une baisse de l'efficacité de comptage.

Le dispositif de mesure que nous avons décrit peut être utilisé pour la détection de radioactivité de gaz autres que le $^{14}CO_2$. On pourra ainsi détecter, en particulier les radionucléides émetteurs de rayonnements β^- ou α. Cependant, ce moyen de détection ne pourra être appliqué qu'aux gaz insolubles dans le liquide scintillant et qui ne réagissent pas chimiquement avec celui-ci.

CONCLUSIONS

Les compteurs à scintillation liquide sont les dispositifs de mesure de radioactivité les plus fréquemment employés dans les laboratoires de biologie où l'on utilise des indicateurs radioactifs. Ces compteurs depuis leur première mise au point n'ont pratiquement pas évolué dans leur principe de fonctionnement, entre autre c'est presque toujours la technique de comptage individuelle qui est pratiquée : chaque échantillon est préparé et mesuré séparément. Si ce procédé peut résoudre la totalité des problèmes posés par les expérimentations biologiques, néanmoins dans un certain nombre de cas, il peut être avantageux de lui substituer une technique de mesure en continu. Ceci, en particulier, lorsque l'on se propose de suivre, chez un animal, en fonction du temps la variation de la radioactivité d'un fluide, comme le sang ou l'air expiré. Un tel dispositif aura non seulement l'avantage de supprimer toutes les opérations manuelles de préparation des échantillons, mais aussi de réduire considérablement le volume des déchets radioactifs dont le traitement est très onéreux.

Ces raisons nous ont conduits à mettre au point deux types de détecteurs pouvant fonctionner en continu. Le premier a été adapté à la mesure de la radioactivité dans le sang d'un animal, le second a été conçu pour la détection de la radioactivité des gaz tels que le $^{14}CO_2$ contenu dans l'air expiré.

Pour la mesure en continu du sang, une cellule avait déjà été proposée, mais son utilisation s'est peu répandue, probablement à cause des mauvaises propriétés de fluorescence du matériau scintillant dans lequel

elle est fabriquée. Ceci nous a conduits à chercher un plastique scintillant de nature différente. Le système mis au point permet la détection du carbone-14 dans le sang avec une efficacité de comptage de 1,8 %. Si ce dispositif est inapplicable à la détection des molécules tritiées dans le sang, par contre il doit permettre de mesurer avec des efficacités supérieures à celles obtenues pour le carbone-14, des radionucléides tels que le calcium-45 ou le phosphore-32.

Toujours dans le cadre des mesures de radioactivité par scintillation liquide, nous nous sommes intéressés à la détection du $^{14}CO_2$ et ceci dans deux domaines très différents, du moins en ce qui concerne les conditions d'échantillonnage ; il s'agit de la radiotoxicologie et de la pharmacocinétique.

En ce qui concerne la radiotoxicologie de nombreuses techniques utilisant les compteurs à scintillation liquide ont été proposées, mais aucune d'entre elles ne répondaient aux exigences suivantes : avoir la possibilité de déterminer une radioactivité spécifique et disposer d'une technique simple à mettre en oeuvre car elle doit être appliquée à un grand nombre d'échantillons. La méthode que nous avons proposée répond à ces deux conditions. Elle consiste, après prélèvement à transformer le CO_2 en $BaCO_3$ et à mesurer directement la radioactivité du carbonate. De plus, du point de vue de sa sensibilité, cette technique permet de détecter le $^{14}CO_2$ avec un seuil de mesure quatre fois inférieur à celui recommandé par la Commission Internationale pour la Protection Radiologique, ceci pour une durée de comptage de seulement cinq minutes. La méthode que nous avons décrite est maintenant adoptée dans le laboratoire de médecine du travail au Centre d'Etudes Nucléaires de Saclay.

Dans les études du métabolisme, tout particulièrement en pharmacocinétique les problèmes posés par la mesure du $^{14}CO_2$ sont de toute autre nature. Il est souhaitable dans ce cas de disposer d'un système de détection en continu. En effet, la biotransformation d'un médicament marqué

par du carbone-14 peut conduire à l'élimination de $^{14}CO_2$ pendant des temps longs : 24 heures ou plus. Le système de détection que nous avons mis au point est simplement constitué d'une fiole de pyrex à barbotage de gaz, très peu onéreuse. L'efficacité de comptage du détecteur, pour le $^{14}CO_2$, est élevée, environ 88 %. L'adjonction à la chaîne de mesure d'un analyseur de CO_2 et d'un dispositif électronique approprié permet l'obtention directe de la radioactivité spécifique du $^{14}CO_2$. Les résultats peuvent être exprimés soit sous forme linéaire, soit sous forme logarithmique.

Ce dispositif de mesure de la radioactivité du $^{14}CO_2$ a été utilisé, entre autre, dans le domaine de la pharmacocinétique mais il peut également servir à la mesure in-vivo de l'activité enzymatique de certaines décarboxylases. On pourrait ainsi mettre en évidence les effets de produits pharmacologiques ou toxicologiques, qui, par leur action sur le phosphate de pyridoxal, modifient l'activité des décarboxylases des acides aminés.

La cellule que nous avons décrite peut également être utilisée pour mettre en évidence d'autrez gaz radioactifs à la seule condition que ceux-ci soient insolubles dans le toluène et n'altèrent pas les solutés scintillants . En particulier, elle peut permettre la surveillance de l'air des enceintes dans lesquelles risquent d'être présents des gaz radioactifs.

La validité des mesures effectuées avec les dispositifs de comptage en continu a été contrôlée en comparant les résultats obtenus avec ceux fournis par une méthode itérative ou avec ceux déjà décrits dans la littérature.

BIBLIOGRAPHIE

(1) G. VALETTE et Y. COHEN
Symposium sur les progrès techniques nucléaires en pharmacodynamie
Masson - 1971

(2) Y. COHEN
International Encyclopedia of pharmacology and therapeutics - Section 78 - volume I
Radionuclides in pharmacology - 1971 - 3, 29

(3) F. CHEVALLIER, M. BRIERE, F. SERRELL et M. CORNU
J. Physiol. 1962, 54, 701, 710
Mesure en continu de la radioactivité spécifique du gaz carbonique expiratoire d'un animal après administration de composés marqués au carbone-14 - Recherches d'équilibres isotopiques.

(4) F. MOREL et F. SERRELL
C.R. Acad. Sci. Paris 1949, 229, 447
Enregistrement graphique de la concentration d'un produit radioactif dans les liquides de l'organisme à l'aide d'un intégrateur mécanique.

(5) F. MOREL
J. Physiologie, 1951, 43, 263-279
L'excrétion urinaire du sel au cours de la diurèse provoquée par l'eau étudiée chez le rat à l'aide du radio-sodium.

(6) J.J. CHIVOT
Rapport CEA 1967 - R 3240
Les colloïdes radioactifs dans l'exploration fonctionnelle du système réticulo-endothélial.

(7) C. ARDIET et J.O. PEYRIN
C.R. Soc. Biol. Lyon 1971, 1062-1066
Méthode de mesure de la vitesse de disparition sanguine d'une molécule marquée d'excrétion rapide par dérivation carotidienne et circulation extracorporelle chez le rat.

(8) J. ROBA, R. RONCUCCI and G. LAMBELIN
Anal. Letters 1969, 2, 6, 325-332
Continuous blood monitoring of hard beta-emitting isotopes in small laboratory animals

(9) E. SCHRAM and R. LOMBAERT
Bioch. J. 1957, 66, 20
Continuous determination of ^{14}C and ^{35}S in aqueous solutions by a plastic scintillator

(10) J.Y. VIDEAU
Communication personnelle - 1969.

(11) M. DOURY-BERTHOD et C. POITRENAUD
Analusis, 1977, 6, 5, 270-274
Dispositif de détection continue de molécules marquées au carbone-14 dans les effluents chromatographiques

(12) B.F.J. PAGE and M.W. BAINES
Int. J. Appl. Rad. Isotopes 1974, 25, 45-46
The continuous monitoring of ^{14}C activity in blood

(13) C. AUROUET, H. BLUMENFELD, G. BOSC, M. BOURDINAUD, P. EVRARD, C. JEANNEY, C. LAFOND
Nucl. Inst. Meth. 1980, 169, 57-64
New low cost acrylic scintillators

(14) M. AZRIA et J.L. KIGER
Experimentation animale, 1972, 5, 13, 24
Intérêt du porc miniature et essai de sa réduction pondérale en vue de faciliter son utilisation en recherche biomédicale

(15) M. AZRIA et J.L. KIGER
Thérapie, 1969, XXIV, 1123-1131
Problèmes posés par les dosages dans le sang. Technique de circulation extracorporelle permanente

(16) W. PERL
Int. J. Appl. Rad. Isotopes 1960, 8, 211-222
A method for curve-fitting by Exponential functions

(17) J. WEPIERRE
Abrégé de pharmacodynamique générale - 1977 - Masson- p. 31

(18) C. GOMENI and R. GOMENI
Computers and Biomed. Res. 1978, 11, 361-365
IGPHARM : Interactive Graphic Package for Pharmacokinetic Analysis

(19) J.B. BIRKS
The theory and practice of scintillation counting
Pergamon Press 1967, p. 339

(20) Y. COHEN, J. WEPIERRE and A. LINDENBAUM
Bioch. Pharmacol. 1967, 16, 175-183
Relations entre les phases de l'anesthésie à l'uréthane-^{14}C et son accumulation dans le système nerveux central.

(21) P. TANNER, J. MEIER
International report Sandoz-Basel 1980 (non publié)
^{14}C-106 600 Pharmacokinetic studies in Dogs

(22) D.A. COOK
Radiochemical Center Amersham Report 1966 - R 179
The pulmonary excretion of carbone-14 dioxide following contamination of the skin by labelled chorella extract

(23) A. MILLING, W.F. MULLER
Chemosphere 1979, 1, 15-19
Comparative metabolism of 2-2'dichlorobiphenyl ^{14}C in mice, rats and Rhesus monkeys after single oral application

(24) W.F. MULLER, T. Mc MURRAY
Chemosphere, 1979, 1, 21-24
Uptake metabolism excretion of chloralbylene-9 ^{14}C by Rhesus monkeys after single oral administration

(25) D.S. FREDERICKSON, D.S. KATSUTO ONO
J. Lab. Clin. Med. 1958, 147-151
An improved technique for assay of $^{14}CO_2$ in expired air using the liquid scintillation counter

(26) K.R. DOREMUS, M.G. O'BRIEN
Am. Ind. Hyg. Ass. J. 1969, 30, 161, 164
Rapid monitoring procedure for ^{14}C in breath

(27) J.A. KORNBLATT, P. BERNATH and J. KATZ
Int. J. Appl. Rad. Isotopes 1963, 15, 191-194
The determination of Specific Activity of $Ba^{14}CO_3$ by Liquid Scintillation Assay

(28) ICRP
Recommandations of the ICRP - Repport of Comittee IV - 1968

(29) P.O. LARSEN
Int. J. Appl. Rad. Isotopes 1973, 24, 613-614
A Convenient Method for Liquid Scintillation Counting of Barium Carbonate-^{14}C

(30) D.A. COOK, G.H.C. DANCER
Radiochemical Center Amersham Report 1965 - R 178
Measurements of the specific activity of respired carbon-14 dioxide as a method of health physics control.

(31) F. SIMONNET et G. SIMONNET
Int. J. Appl. Rad. Isotopes 1978, 29, 589-92
Mesure en continu par scintillation en milieu liquide du CO_2-^{14}C expiré par un animal

(32) J.C. TURNER
Int. J. Appl. Rad. Isotopes 1969, 20, 761-66
Gel suspension counting of baryum carbonate-^{14}C

(33) F. CHEVALLIER
Cours et documents de biologie 4, 1972, Gordon et Breach
Biodynamique et Indicateurs p. 147

(34) Commission d'Etablissement des Méthodes d'Analyse du Commissariat à l'Energie Atomique, 1973
Mesures d'activité nucléaire - Masson

(35) R.B. BRUCE, J.H. NEWMAN and F. PINCHBECK
Int. J. Appl. Rad. Isotopes 1968, 19, 391-395
Apparatus for continuous monitoring of $^{14}CO_2$ from large animals

(36) N.S. HUSKISSON and P.F.V. WARD
Int. J. Appl. Rad. Isotopes 1978, 29, 729-734
A Reliable Method for Scintillation Counting of $^{14}CO_2$ Trapped in Solutions of Sodium Hydroxide Using a Scintillant Suitable for General Use

(37) J.M. PASSMAN, N.S. RADIN and J.A.D. COOPER
Analyt. Chem. 1956, 28, 484
Liquid Scintillation Technique for Measuring Carbon-14 - Dioxide Activity

(38) P. GODFREY and F. SNYDER
Anal. Biochem. 1962, 4, 310-315
A procedure for in-vivo ^{14}C collection and subsequent scintillation counting

(39) F.H. WOELLER
Anal. Bioch. 1961, 2, 508-511
Liquid Scintillation counting of $^{14}CO_2$ with phenylethylamine

(40) D.L. HORROCKS
Int. J. Appl. Rad. Isotopes 1968, 19, 859-864
Direct measurement of $^{14}CO_2$ in a liquid scintillation counter

(41) G.W. BARENDSEN
Rev. Scient. Instrum. 1957, 28, 430-432
Radiocarbon dating with liquid CO_2 as diluent in a scintillation solution

(42) G.V. LEROY, G.T. OKITA, E.C. TOCUS and D. CHARLESTON
Int. J. Appl. Rad. Isotopes 1960, 7, 273-286
Continuous measurement of specific activity of $^{14}CO_2$ in expired air

(43) S. SUZUKI, T. AOYAGI, E. FUJIHIRA, K. TOMONO, M. TOYOHARA, N. TOKUNAGA, A. KOYANO and A. SHIGEMATSU
Nucl. Inst. and Meth. 1973, 106, 539-547
An improved scintillation probe for continuous counting of expiratory $^{14}CO_2$-gas.

(44) M. PASCAUD
Bull. Soc. Chim. Biol. 1963, 45, 551-559
Oxydation de l'acétate 1-^{14}C par le rat et discussion des renouvellements de l'acétate et de l'acétylcoenzyme A

(45) F. CHEVALLIER, C. LUTTON et G. CHAMPARNAUD
Rev. Comp. Animal 1974, 8, 127-145
Cycles et profils d'activité du rat blanc au cours du nycthemere définis par le débit de son CO_2

(46) E. BOYLAND and R. NERY
Biochem. J. 1965, 94, 198, 208
The metabolism of urethane and related compounds.